

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 510013

(P2003 - 510013A)

(43)公表日 平成15年3月18日 (2003.3.18)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7088	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088		45/00	4 B 0 2 4
45/00		48/00	4 B 0 6 3
48/00		A 6 1 P 1/00	4 B 0 6 4
A 6 1 P 1/00		1/08	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全204数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 615658(P2000 - 615658)

(86) (22)出願日 平成12年5月3日 (2000.5.3)

(85)翻訳文提出日 平成13年11月2日 (2001.11.2)

(86)国際出願番号 PCT/US00/12065

(87)国際公開番号 W000/066630

(87)国際公開日 平成12年11月9日 (2000.11.9)

(31)優先権主張番号 09/303,593

(32)優先日 平成11年5月3日 (1999.5.3)

(33)優先権主張国 米国 (US)

(31)優先権主張番号 09/518,914

(32)優先日 平成12年3月3日 (2000.3.3)

(33)優先権主張国 米国 (US)

(71)出願人 シナプティック・ファーマスーティカル・コーポレーション

アメリカ合衆国、ニュージャージー州 07 652、パラムス、カレッジ・ロード 215

(72)発明者 ボロースキー、ベス・イー

アメリカ合衆国、ニュージャージー州 07 042 モントクレアー、パーク・ストリート 218

(72)発明者 オゴザレク、クリスティーヌ・エル

アメリカ合衆国、ニュージャージー州 07 662 ロッシェル・パーク、デュランド・ブレイス 25

(74)代理人 弁理士 鈴江 武彦 (外 4 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 SNORF 3 6 a および SNORF 3 6 b 受容体をコードする DNA

(57)【要約】

【解決手段】 本発明は、哺乳類 SNORF 3 6 受容体をコード化している単離した核酸、精製した哺乳類 SNORF 3 6 受容体、哺乳類 SNORF 3 6 をコード化している核酸を備えるベクター、そのようなベクターを備える細胞、哺乳類 SNORF 3 6 受容体に対する抗体、哺乳類 SNORF 3 6 受容体をコード化している核酸を検出するために有用な核酸プローブ、哺乳類 SNORF 3 6 受容体をコード化している核酸に固有の配列に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、正常または変異哺乳物 SNORF 3 6 受容体をコード化している DNA を発現するトランスジェニック、非ヒト動物、哺乳類 SNORF 3 6 受容体を単離する方法、哺乳類 SNORF 3 6 受容体の活性に関連する異常を処置する方法、および哺乳類 SNORF 3 6 受容体に対する化合物の結合を検出する方法、SNORF 3 6 受容体のアゴニストおよび拮抗物質を同定する方法、およびそのように同定されたアゴニストおよび拮抗物質を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 哺乳類SNORF36受容体をコード化する単離された核酸

。

【請求項2】 核酸がDNAである、請求項1に記載の核酸。

【請求項3】 DNAがcDNAである、請求項2に記載の核酸。

【請求項4】 DNAがゲノムDNAである、請求項2に記載のDNA。

【請求項5】 核酸がRNAである、請求項1に記載の核酸。

【請求項6】 哺乳類SNORF36受容体がヒトSNORF36a受容体である、請求項1に記載の核酸。

【請求項7】 哺乳類SNORF36受容体がヒトSNORF36b受容体である、請求項1に記載の核酸。

【請求項8】 ヒトSNORF36a受容体が、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号PTA-203977)によってコード化されるものと同じのアミノ酸配列を有する、請求項6に記載の核酸。

【請求項9】 ヒトSNORF36b受容体が、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号PTA-203976)によってコード化されるものと同じのアミノ酸配列を有する、請求項7に記載の核酸。

【請求項10】 哺乳類SNORF36受容体がラットSNORF36受容体である、請求項1に記載の核酸。

【請求項11】 ラットSNORF36受容体が、プラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)によってコード化されるものと同じのアミノ酸配列を有する、請求項10に記載の核酸。

【請求項12】 ヒトSNORF36a受容体が、図2A-2Bに示すアミノ酸配列(配列番号2)と同じのアミノ酸配列を有する、請求項6に記載の核酸

。

【請求項13】 ヒトSNORF36b受容体が、図4A-4Cに示すアミノ酸配列(配列番号4)と同じのアミノ酸配列を有する、請求項7に記載の核酸

。

【請求項14】 ラットSNORF36受容体が、図10A-10Cに示す

アミノ酸配列（配列番号8）と同一のアミノ酸配列を有する、請求項10に記載の核酸。

【請求項15】 精製哺乳類SNORF36受容体タンパク質。

【請求項16】 SNORF36受容体タンパク質がヒトSNORF36a受容体タンパク質である、請求項15に記載の精製哺乳類SNORF36受容体タンパク質。

【請求項17】 SNORF36受容体タンパク質がヒトSNORF36b受容体タンパク質である、請求項15に記載の精製哺乳類SNORF36受容体タンパク質。

【請求項18】 SNORF36受容体タンパク質がラットSNORF36受容体タンパク質である、請求項15に記載の精製哺乳類SNORF36受容体タンパク質。

【請求項19】 請求項1に記載の核酸を含むベクター。

【請求項20】 請求項6または請求項7に記載の核酸を含むベクター。

【請求項21】 請求項10に記載の核酸を含むベクター。

【請求項22】 受容体をコード化する核酸と連動する核酸の細胞における発現に必要な調節要素を備え、それを発現させる、細菌、両生類、酵母、昆虫または哺乳類の細胞における発現に適応する請求項19、20または21に記載のベクター。

【請求項23】 ベクターがバキュロウイルスである、請求項22に記載のベクター。

【請求項24】 ベクターがプラスミドである、請求項19に記載のベクター。

【請求項25】 pcDNA3.1-hSNORF36a-f（ATCC受託番号PTA-203977）で表わされる請求項24に記載のプラスミド。

【請求項26】 pcDNA3.1-hSNORF36b-f（ATCC受託番号PTA-203976）で表わされる請求項24に記載のプラスミド。

【請求項27】 pEXJ.T7-rSNORF36-f（ATCC特許寄託番号PTA-1216）で表わされる請求項24に記載のプラスミド。

【請求項28】 請求項22に記載のベクターを含む細胞。

【請求項29】 細胞が哺乳類以外の細胞である、請求項28に記載の細胞

。

【請求項30】 哺乳類以外の細胞がアフリカツメガエル卵母細胞またはアフリカツメガエルメラニン細胞である、請求項29に記載の細胞。

【請求項31】 細胞が哺乳類細胞である、請求項28に記載の細胞。

【請求項32】 細胞が、COS-7細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、NIH-3T3細胞、LM(tk-)細胞、マウスY1細胞、またはCHO細胞である、請求項31に記載の哺乳類細胞。

【請求項33】 細胞が昆虫細胞である、請求項28に記載の細胞。

【請求項34】 昆虫細胞が、Sf9細胞、Sf21細胞、またはイラクサギンウワバ5B-4細胞である、請求項33に記載の昆虫細胞。

【請求項35】 請求項28、29、31、32、33または34のいずれか一項に記載の細胞から単離される膜標本。

【請求項36】 プローブが、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号PTA-203977)に含まれるヒトSNORF36a受容体をコード化する核酸の二本鎖のうち的一本中に存在する非反復配列に相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項37】 プローブが、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号PTA-203976)に含まれるヒトSNORF36b受容体をコード化する核酸の二本鎖のうち的一本中に存在する非反復配列に相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項38】 プローブが、プラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸の二本鎖のうち的一本中に存在する非反復配列に

相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項39】 プローブが、(a)図1A-1Cに示す核酸配列(配列番号1)または(b)その逆補体中に存在する非反復配列に相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項40】 プローブが、(a)図3A-3Cに示す核酸配列(配列番号3)または(b)その逆補体中に存在する非反復配列に相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項41】 プローブが、(a)図9A-9Cに示す核酸配列(配列番号7)または(b)その逆補体中に存在する非反復配列に相補的な配列を有する、少なくとも15のヌクレオチドを含み、哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成する核酸プローブ。

【請求項42】 核酸がDNAである、請求項39、40または41に記載の核酸プローブ。

【請求項43】 核酸がRNAである、請求項39、40または41に記載の核酸プローブ。

【請求項44】 請求項5に記載のRNAへ特異的にハイブリッド形成して、RNAの翻訳を防止することができる配列を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項45】 請求項4に記載のゲノムDNAへ特異的にハイブリッド形成して、ゲノムDNAの翻訳を防止することができる配列を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項46】 オリゴヌクレオチドが、化学変性ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含む、請求項44または45に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項47】 請求項1の核酸によってコード化される哺乳類SNORF

36受容体に結合することができる抗体。

【請求項48】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項47に記載の抗体。

【請求項49】 請求項47に記載の抗体の哺乳類SNORF36受容体に対する結合を競合的に抑制することができる薬剤。

【請求項50】 抗体がモノクローナル抗体または抗血清である、請求項47に記載の抗体。

【請求項51】 (a)細胞膜を通過することができ、哺乳類SNORF36受容体の発現を減少させるために有効な量の請求項44に記載のオリゴヌクレオチド、および(b)細胞膜を通過することができる製薬上許容され得る担体を含む薬学的組成物。

【請求項52】 オリゴヌクレオチドが、mRNAを不活性化する物質に結合する、請求項51に記載の薬学的組成物。

【請求項53】 mRNAを不活性化する物質がリボザイムである、請求項52に記載の薬学的組成物。

【請求項54】 製薬上許容され得る担体が、構造への結合後には細胞によって吸収され得る細胞上の哺乳類SNORF36受容体に結合する構造を含む、請求項52に記載の薬学的組成物。

【請求項55】 製薬上許容され得る担体が、選択される細胞のタイプに特有の哺乳類SNORF36受容体に結合することができる、請求項54に記載の薬学的組成物。

【請求項56】 配位子のヒトSNORF36受容体に対する結合を阻害するために有効な量の請求項47に記載の抗体および製薬上許容され得る担体を含む薬学的組成物。

【請求項57】 請求項1に記載の哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを発現するヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項58】 天然哺乳類SNORF36受容体をロックアウトする相同組換えを含む、ヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項59】 そのゲノムが、哺乳類SNORF36受容体をコード化するmRNAに相補的であり、このmRNAとハイブリッド形成することによって、こうしたmRNAの翻訳およびこうした受容体の発現を減少させるアンチセンスmRNAに転写されるようにゲノム内に配置される、請求項1に記載の哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAに相補的なアンチセンスDNAを含む、ヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項60】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAが誘導プロモーターをさらに含む、請求項57または58に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項61】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAが組織特異性調節要素をさらに含む、請求項57または58に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項62】 ヒト以外のトランスジェニック哺乳類がマウスである、請求項57、58または59に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類。

【請求項63】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを含有し、この受容体を細胞表面上で発現する細胞（こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない）と化合物とを結合に適する条件もとで接触させること、および化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する特異的結合を検出することを含む、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する化合物を同定するための方法。

【請求項64】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを含有し、この受容体を細胞表面上で発現する細胞（こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない）からの膜標本と化合物とを結合に適する条件もとで接触させること、および化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する特異的な結合を検出することを含む、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する化合物を同定するための方法。

【請求項65】 哺乳類SNORF36受容体がヒトSNORF36a受容体またはヒトSNORF36b受容体である、請求項63または64に記載の方法。

【請求項66】 哺乳類SNORF36受容体が、プラスミドp c DNA 3.1-h SNORF36 a-f (ATCC受託番号PTA-203977)によってコード化されるヒトSNORF36 a受容体と実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項67】 哺乳類SNORF36受容体が、プラスミドp c DNA 3.1-h SNORF36 b-f (ATCC受託番号PTA-203976)によってコード化されるヒトSNORF36 b受容体と実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項68】 哺乳類SNORF36受容体が、図2A-2B(配列番号2)または図4A-4C(配列番号4)に示すものと実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項69】 哺乳類SNORF36受容体が、図2A-2B(配列番号2)または図4A-4C(配列番号4)に示すアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項70】 哺乳類SNORF36受容体がラットSNORF36受容体である、請求項63または64に記載の方法。

【請求項71】 哺乳類SNORF36受容体が、プラスミドp EX J.T7-r SNORF36-f (ATCC特許寄託番号PTA-1216)によってコード化されるラットSNORF36受容体と実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項72】 哺乳類SNORF36受容体が、図10A-10Cに示すもの(配列番号8)と実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項73】 哺乳類SNORF36受容体が、図10A-10Cに示すもの(配列番号8)と同じアミノ酸配列を有する、請求項63または64に記載の方法。

【請求項74】 化合物が、哺乳類SNORF36受容体と結合することを以前に知られていない、請求項63または64に記載の方法。

【請求項75】 請求項74に記載の方法によって同定される化合物。

【請求項76】 細胞が昆虫細胞である、請求項63または64に記載の方法。

【請求項77】 細胞が哺乳類細胞である、請求項63または64に記載の方法。

【請求項78】 細胞が神経以外の細胞起源である、請求項77に記載の方法。

【請求項79】 神経以外の細胞が、COS-7細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、CHO細胞、NIH-3T3細胞、マウスY1細胞、またはLM(tk-)細胞である、請求項78に記載の方法。

【請求項80】 化合物が、哺乳類SNORF36受容体と結合することを以前に知られていない化合物である、請求項77に記載の方法。

【請求項81】 請求項80の方法によって同定される化合物。

【請求項82】 哺乳類SNORF36受容体を細胞表面上で発現する細胞（こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない）を、化合物および受容体に結合することが知られている第二化合物の両方と、および第二化合物のみと、こうした化合物が受容体に結合するために適する条件もとで別個に接触させること、ならびに化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する特異的な結合を検出することを含む方法であって、試験される化合物が存在する状態での第二化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する結合の減少が、こうした化合物が哺乳類SNORF36受容体に結合することを示す、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する化合物を同定するための競合的結合を含む方法。

【請求項83】 哺乳類SNORF36受容体を細胞表面上で発現する細胞（こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない）からの膜標本を、化合物および受容体に結合することが知られている第二化合物の両方と、および第二化合物のみと、こうした化合物が受容体に結合するために適する条件もとで別個に接触させること、ならびに化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する特異的な結合を検出することを含む方法であって、試験される化合物が存在する状態での第二化合物の哺乳類SNORF36受容体に対する結合の減少

が、こうした化合物が哺乳類SNORF36受容体に結合することを示す、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する化合物を同定するための競合的結合を含む方法。

【請求項84】 哺乳類SNORF36受容体がヒトSNORF36a受容体またはヒトSNORF36b受容体である、請求項82または83に記載の方法。

【請求項85】 哺乳類SNORF36受容体がラットSNORF36受容体である、請求項82または83に記載の方法。

【請求項86】 細胞が昆虫細胞である、請求項82または83に記載の方法。

【請求項87】 細胞が哺乳類細胞である、請求項82または83に記載の方法。

【請求項88】 細胞が神経以外の細胞起源である、請求項87に記載の方法。

【請求項89】 神経以外の細胞が、COS-7細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、CHO細胞、NIH-3T3細胞、マウスY1細胞、またはLM(tk-)細胞である、請求項88に記載の方法。

【請求項90】 化合物が、哺乳類SNORF36受容体と結合することを以前に知られていない、請求項89に記載の方法。

【請求項91】 請求項90の方法によって同定される化合物。

【請求項92】 (a)哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAでトランスフェクションされ、これを発現する細胞と、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合することが知られている化合物とを接触させる工程；

(b)こと(a)の細胞と、哺乳類SNORF36受容体と特異的に結合することが知られていない多数の化合物とを、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物を結合させる条件のもとで接触させること；

(c)哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物の結合が、前記多数の化合物が存在しない状態での化合物の結合に比して、多数の化合物が存在する状態で減少するかどうかを測定すること；およびそうである場合

には、

(d) 前記多数の化合物の中に含まれる各化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別個に測定することによって、その中に含まれる、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する一切の化合物を同定することを含む、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られていない多数の化合物をスクリーニングして、哺乳類SNORF36受容体と特異的に結合する化合物を同定する方法。

【請求項93】 (a) 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAでトランスフェクションされ、これを発現する細胞からの膜標本と、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合することが知られていない多数の化合物とを、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物を結合させる条件のもとで接触させること；

(b) 哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物の結合が、前記多数の化合物が存在しない状態での化合物の結合に比して、多数の化合物が存在する状態で減少するかどうかを測定すること；およびそうである場合には、

(c) 前記多数の化合物の中に含まれる各化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別個に測定することによって、その中に含まれる、哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合する一切の化合物を同定することを含む、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られていない多数の化合物をスクリーニングして、哺乳類SNORF36受容体と特異的に結合する化合物を同定する方法。

【請求項94】 哺乳類SNORF36受容体がヒトSNORF36a受容体またはヒトSNORF36b受容体である、請求項92または93に記載の方法。

【請求項95】 哺乳類SNORF36受容体がラットSNORF36受容体である、請求項92または93に記載の方法。

【請求項96】 細胞が哺乳類細胞である、請求項92または93に記載の方法。

【請求項97】 哺乳類細胞が神経以外の細胞起源である、請求項96に記載の方法。

【請求項98】 神経以外の細胞が、COS-7細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、LM(tk-)細胞、CHO細胞、マウスY1細胞、またはNIH-3T3細胞である、請求項97に記載の方法。

【請求項99】 細胞から全mRNAを得ること、そうして得られたmRNAと請求項36、37、38、39、40または41に記載の核酸プローブとを、ハイブリッド形成条件下で接触させること、プローブにハイブリッド形成されたmRNAの存在を検出すること、およびその結果、細胞による哺乳類SNORF36受容体の発現を検出することを含む、哺乳類SNORF36受容体についてのmRNAコーディングの存在を検出することによって哺乳類SNORF36受容体の発現を検出する方法。

【請求項100】 細胞と請求項47に記載の抗体とを、その抗体を受容体に結合させる条件のもとで接触させること、細胞に結合した抗体の存在を検出すること、およびその結果、細胞表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出することを含む、細胞の表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出する方法。

【請求項101】 哺乳類SNORF36受容体の活性レベルが哺乳類SNORF36受容体の発現を調節する誘導プロモーターの使用によって変えられる請求項57に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類を生じることを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性レベルを変化させることの生理学的効果を測定する方法。

【請求項102】 それぞれが異なる量の哺乳類SNORF36受容体を発現する請求項57に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類の一団を生じることを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性レベルを変化させることの生理学的効果を測定する方法。

【請求項103】 請求項57、58または59に記載のヒト以外のトランスジェニック哺乳類に化合物を投与すること、および哺乳類SNORF36受容体の過活性の結果としてヒト以外のトランスジェニック哺乳類が示すなんらかの

生理障害および/または行動障害を化合物が緩和するかどうかを測定することを
含む方法であって、こうした異常の緩和によって化合物を拮抗物質として同定す
る、哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させることによって緩和される異
常を緩和することができる拮抗物質を同定する方法。

【請求項104】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a
受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である
、請求項103に記載の方法。

【請求項105】 請求項103に記載の方法によって同定される拮抗物質
。

【請求項106】 請求項105に記載の拮抗物質および担体を含む組成物
。

【請求項107】 被験者に有効量の請求項106に記載の薬学的組成物を
投与することによって、異常を治療することを含む、哺乳類SNORF36受容
体の活性を低下させることによって緩和される被験者の異常を治療する方法。

【請求項108】 化合物を請求項57、58または59のヒト以外のトラ
ンスジェニック哺乳類に投与すること、およびその化合物がヒト以外のトラ
ンスジェニック哺乳類によって示されるなんらかの生理障害および/または行動障害
を緩和するかどうかを測定することを含む方法であって、こうした異常の緩和に
よって化合物を作用物質として同定する、哺乳類SNORF36受容体の活性を
増大させることによって緩和される被験者の異常を緩和することができる作用物
質を同定する方法。

【請求項109】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a
受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である
、請求項108に記載の方法。

【請求項110】 請求項109に記載の方法によって同定される作用物質
。

【請求項111】 請求項110に記載の方法によって同定される作用物質
および担体を含む組成物。

【請求項112】 被験者に有効量の請求項111に記載の組成物を投与す

ることによって、異常を治療することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性を増大させることによって緩和される被験者の異常を治療する方法。

【請求項113】 (a) 障害を有する被験者のDNAを得ること；

(b) 制限酵素の一団を用いてDNAの制限消化を行うこと；

(c) サイジングゲルを用いて得られたDNA断片を電気泳動によって分離すること；

(d) 得られたゲルと、哺乳類SNORF36受容体をコード化し、検出可能なマーカーで標識された核酸分子の配列中に含まれる非反復配列と特異的にハイブリッド形成することができる核酸プローブとを接触させること；

(e) 請求項1の哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAにハイブリッド形成された標識バンドを検出して、障害を有する被験者のDNAに特有の固有バンドパターンを作ること；

(f) その障害にまだ有していない被験者から分析判定のために得たDNAを用いてこと(a)～(e)を繰り返すこと；および

(g) 工程(e)からの障害を有する被験者のDNAに特有の独自のバンドパターンと、その障害をまだ有していない被験者に関する工程(f)からのバンドパターンとを比較して、パターンが同じであるか異なるかを決定し、その結果、パターンが同じ場合にはその障害に対する素質を分析判定すること

を含む、特定の哺乳類対立遺伝子の活性に関連する障害に対する素質を分析判定するための方法。

【請求項114】 特定の哺乳類対立遺伝子の活性に関連する障害を分析判定する、請求項113に記載の方法。

【請求項115】 (a) 哺乳類SNORF36受容体を発現する細胞を培養すること；

(b) 細胞から哺乳類SNORF36受容体を回収すること；および

(c) そうして回収した哺乳類SNORF36受容体を精製すること

を含む、請求項15に記載の精製哺乳類SNORF36受容体を調製する方法。

【請求項116】 (a) 哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸を適する発現ベクターに挿入すること；

(b) 得られたベクターを適する宿主細胞に導入すること；

(c) 哺乳類SNORF36受容体を生成させるために適する条件のもとに得られた宿主細胞を置くこと；

(d) そうして生成された哺乳類SNORF36受容体を回収すること；および任意に、

(e) そうして回収された哺乳類SNORF36受容体を単離および/または精製すること

を含む、請求項15に記載の精製哺乳類SNORF36受容体を調製する方法。

【請求項117】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAでトランスフェクションされ、これを発現する細胞と化合物とを哺乳類SNORF36受容体を活性化させる条件のもとで接触させること、および哺乳類SNORF36受容体の活性のあらゆる増大を検出することを含み、それによって、化合物が哺乳類SNORF36受容体作用物質であるかどうかを決定する、化合物が哺乳類SNORF36受容体作用物質であるかどうかを決定する方法。

【請求項118】 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAでトランスフェクションされ、これを発現する細胞と化合物とを、既知の哺乳類SNORF36受容体作用物質の存在のもと、哺乳類SNORF36受容体を活性化させる条件下で接触させること、および哺乳類SNORF36受容体の活性のあらゆる低下を検出することを含み、それによって、化合物が哺乳類SNORF36受容体拮抗物質であるかどうかを決定する、化合物が哺乳類SNORF36受容体拮抗物質であるかどうかを決定する方法。

【請求項119】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項117または118に記載の方法。

【請求項120】 哺乳類SNORF36受容体の活性を増大させるために有効な量の請求項117の方法によって決定される哺乳類SNORF36受容体作用物質および担体を含む組成物。

【請求項121】 哺乳類SNORF36受容体作用物質が以前に知られていない、請求項120に記載の組成物。

【請求項122】 哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させるために有効な量の請求項118の方法によって決定される哺乳類SNORF36受容体拮抗物質および担体を含む組成物。

【請求項123】 哺乳類SNORF36受容体拮抗物質が以前に知られていない、請求項122に記載の組成物。

【請求項124】 第二メッセンジャー応答を生じ、細胞表面上で哺乳類SNORF36受容体を発現する細胞(こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない)と化合物とを、哺乳類SNORF36受容体の活性化に適する条件のもとで接触させること、および化合物が存在する状態および存在しない状態で第二メッセンジャー応答を測定することを含む方法であって、化合物が存在する状態での第二メッセンジャー応答の変化が、化合物が哺乳類SNORF36受容体を活性化することを示す、化合物が哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合し、この受容体を活性化するかどうかを決定する方法。

【請求項125】 第二メッセンジャー応答が塩化物チャネル活性化を含み、第二メッセンジャーの変化が塩化物電流レベルの増大である、請求項124に記載の方法。

【請求項126】 第二メッセンジャー応答が細胞内カルシウムレベルを含み、第二メッセンジャーの変化が細胞内カルシウムの測度の増大である、請求項124に記載の方法。

【請求項127】 第二メッセンジャー応答がイノシトールリン酸の放出を含み、第二メッセンジャーの変化がイノシトールリン酸レベルの増大である、請求項124に記載の方法。

【請求項128】 第二メッセンジャー応答を生じ、細胞表面上で哺乳類SNORF36受容体を発現する細胞(こうした細胞は、哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しない)を、化合物および哺乳類SNORF36受容体を活性化することが知られている第二化合物の両方と、および第二化合物のみと、哺乳類SNORF36受容体の活性化に適する条件のもとで別個に接触させること、ならびに第二化合物のみが存在する状態、および第二化合物と化合物の両方が存在する状態で第二メッセンジャー応答を測定することを含む方法であって、第二

化合物のみが存在する状態より化合物と第二化合物の両方が存在する状態のほうが第二メッセンジャー応答の変化が小さいことが、化合物が哺乳類SNORF36受容体の活性を抑制することを示す、化合物が哺乳類SNORF36受容体に対して特異的に結合し、この受容体の活性を抑制するかどうかを決定する方法。

【請求項129】 第二メッセンジャー応答が塩化物チャネル活性化を含み、第二メッセンジャー応答の変化が、第二化合物のみが存在する状態より化合物と第二化合物の両方が存在する状態のほうが小さい塩化物電流レベルの増大である、請求項128に記載の方法。

【請求項130】 第二メッセンジャー応答が細胞内カルシウムレベルの変化を含み、第二メッセンジャー応答の変化が、第二化合物のみが存在する状態より化合物と第二化合物の両方が存在する状態のほうが小さい細胞内カルシウム測度の増大である、請求項129に記載の方法。

【請求項131】 第二メッセンジャー応答がイノシトールリン酸の放出を含み、第二メッセンジャー応答の変化が、第二化合物のみが存在する状態より化合物と第二化合物の両方が存在する状態のほうが小さいイノシトールリン酸レベルの増大である、請求項128に記載の方法。

【請求項132】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項124、125、126、127、128、129、130または131のいずれかに記載の方法。

【請求項133】 細胞が昆虫細胞である、請求項121、125、126、127、128、129、130または131のいずれか一項に記載の方法。

【請求項134】 細胞が哺乳類細胞である、請求項124、125、126、127、128、129、130または131のいずれか一項に記載の方法。

【請求項135】 哺乳類細胞が神経以外の細胞起源である、請求項134に記載の方法。

【請求項136】 神経以外の細胞が、COS-7細胞、CHO細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、NIH-3T3細胞、またはLM(tk-)細胞である、

請求項135に記載の方法。

【請求項137】 化合物が、哺乳類SNORF36受容体と結合することを以前に知られていない、請求項124、125、126、127、128、129、130または131に記載の方法。

【請求項138】 請求項137の方法によって決定される化合物。

【請求項139】 請求項124、125、126または127に記載の方法などによって決定される、哺乳類SNORF36受容体の活性を増大するために有効な量の哺乳類SNORF36受容体作用物質、および担体を含む組成物。

【請求項140】 哺乳類SNORF36受容体作用物質が以前に知られていない、請求項139に記載の組成物。

【請求項141】 請求項128、129、130または131に記載の方法などによって決定される、哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させるために有効な量の哺乳類SNORF36受容体拮抗物質、および担体を含む組成物。

【請求項142】 哺乳類SNORF36受容体拮抗物質が以前に知られていない、請求項141に記載の組成物。

【請求項143】 (a) 哺乳類SNORF36受容体でトランスフェクションされ、これを発現する細胞と、哺乳類SNORF36受容体を活性化することが知られていない多数の化合物とを、哺乳類SNORF36受容体を活性化させる条件もとで接触させること；

(b) 哺乳類SNORF36受容体の活性が、一つ以上の前記化合物が存在する状態で増大するかどうかを測定すること；およびそうである場合には、

(c) 哺乳類SNORF36受容体の活性化が、前記多数の化合物に含まれるいずれかの化合物によって増大されるかどうかを別個に測定することによって、哺乳類SNORF36受容体を活性化する各化合物を同定することを含む、哺乳類SNORF36受容体を活性化することが知られていない多数の化合物をスクリーニングして、哺乳類SNORF36受容体を活性化する化合物を同定する方法。

【請求項144】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a

受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項143に記載の方法。

【請求項145】 (a) 哺乳類SNORF36受容体でトランスフェクションされ、これを発現する細胞と、多数の化合物とを、既知の哺乳類SNORF36受容体作用物質の存在のもと、哺乳類SNORF36受容体を活性化させる条件下で接触させること；

(b) 哺乳類SNORF36受容体の活性化の程度または量が、一つ以上のこうした化合物が存在しない状態での哺乳類SNORF36受容体の活性化の程度または量に比して、一つ以上の化合物が存在する状態で減少するかどうかを測定すること；およびそうである場合には、

(c) こうした各化合物が、前記多数の化合物に含まれる各化合物についての哺乳類SNORF36受容体の活性化を抑制するかどうかを別個に測定することによって、こうした多数の化合物に含まれる哺乳類SNORF36受容体の活性化を抑制する一切の化合物を同定することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性化を抑制することを知られていない多数の化合物をスクリーニングして、哺乳類SNORF36受容体の活性化を抑制する化合物を同定する方法。

【請求項146】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項145に記載の方法。

【請求項147】 細胞が哺乳類細胞である、請求項143、144、145または146のいずれか一項に記載の方法。

【請求項148】 哺乳類細胞が神経以外の細胞起源である、請求項147に記載の方法。

【請求項149】 神経以外の細胞が、COS-7細胞、293ヒト胎児腎臓細胞、LM(tk-)細胞、またはNIH-3T3細胞である、請求項148に記載の方法。

【請求項150】 哺乳類SNORF36受容体の活性を増大させるために有効な量の請求項143または144に記載の方法によって同定される化合物、

および担体を含む組成物。

【請求項151】 哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させるために有効な量の請求項145または146に記載の方法によって同定される化合物、および担体を含む組成物。

【請求項152】 哺乳類SNORF36受容体作用物質である化合物を被験者に異常を治療するために有効な量で投与することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性を増大させることによって緩和される被験者の異常を治療する方法。

【請求項153】 哺乳類SNORF36受容体拮抗物質である化合物を被験者に異常を治療するために有効な量で投与することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させることによって緩和される被験者の異常を治療する方法。

【請求項154】 請求項63、64、82、83、92または93のいずれか一項に記載の方法を用いて化合物を同定し、その後、その化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体を合成することを含む、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する物質の組成物を製造するための方法。

【請求項155】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項154に記載の方法。

【請求項156】 請求項117、124または143のいずれかに記載の方法を用いて化合物を同定し、その後、その化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体を合成することを含む、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する物質の組成物を製造するための方法。

【請求項157】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項156に記載の方法。

【請求項158】 請求項118、128または145のいずれかに記載の方法を用いて化合物を同定し、その後、その化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体を合成することを含む、哺乳類SNORF36受容体に

特異的に結合する物質の組成物を製造するための方法。

【請求項159】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項158に記載の方法。

【請求項160】 担体と、製薬上有効な量の請求項63、64、82、83、92または93のいずれかに記載の方法によって同定される化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体とを混合することを含む、組成物を調製するための方法。

【請求項161】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項160に記載の方法。

【請求項162】 担体と、製薬上有効な量の請求項117、124または143のいずれかに記載の方法によって同定される化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体とを混合することを含む、組成物を調製するための方法。

【請求項163】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項162に記載の方法。

【請求項164】 担体と、製薬上有効な量の請求項118、128または145のいずれかに記載の方法によって同定される化合物または新規の構造および機能類似体またはその相同体とを混合することを含む、組成物を調製するための方法。

【請求項165】 哺乳類SNORF36受容体が、ヒトSNORF36a受容体、ヒトSNORF36b受容体またはラットSNORF36受容体である、請求項164に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の背景)**

本出願は、1999年5月3日に出願された米国特許出願番号09/303,593号の一部継続出願である、2000年3月3日に出願された米国特許出願番号09/518,914号の一部継続であり、これに優先権を主張し、それらの内容は、参照により本出願に組み込まれる。

【0002】

本出願を通じて、括弧内の部分的な引用により、様々な刊行物を参照する。これらの刊行物の完全な引用は、特許請求の範囲の直前で明細書の最後に見出し得る。これらの刊行物の開示のその全体を、これにより参照して本出願に組み込み、本発明の属する技術分野をより完全に説明する。

【0003】

神経調節因子は、神経系の伝達を補助または調節する種々の群の天然物を含む。それらは、ニューロペプチド、アミノ酸、生体アミン、脂質および脂質代謝物、および他の代謝副産物を含むがこれに限定されない。これらの神経調節物質の多くは、細胞の外部から内部にシグナルを伝達する、特異的細胞表面受容体と相互作用する。Gタンパク質共役受容体(GPCR)は、多くの神経伝達物質と相互作用してその効果を媒介する細胞主要なクラスの表面受容体を示す。GPCRは、細胞膜7回貫通ドメインを特徴とし、受容体活性化と、アデニル酸シクラーゼ刺激などの細胞内生化学的結果を連結しているGタンパク質を介して、その効果器に共役している。

【0004】

オプシンは、GPCRの主要なファミリーの1つを示す。これらの受容体は、光が、生理的条件下でのその活性に重大な補因子であるという点で、他のGPCRと比べて独特である。オプシンファミリーの主要なサブクラスは、ロドプシンおよび錐体オプシンなどの視覚オプシンのそれである。視覚感光色素としても知られる視覚オプシンは、眼に位置し、眼から脳への視覚情報の伝達に参与している。オプシン機能の我々の解明は、主に、視覚感光色素の研究から得られた。

【0005】

ロドプシンおよび錐体オプシンは、それぞれ、網膜の桿体および錐体の光受容体に局在している。これらの感光色素は、異なる波長の光に応答し、従って、異なる吸収極大 (λ_{max}) に関連した非常に異なる吸収スペクトルを有する。両方の受容体サブタイプが、照明に応答して、視覚シグナルを脳に伝達するが、それらは、視覚に関連した非常に異なる機能を実施するように進化した。錐体オプシンは、主に、様々な種において、明所視としても知られる、色覚に関与する。これに対し、錐体オプシンから進化したと考えられているロドプシンは、主に、暗所視としても知られる暗順応に関与する。桿体光受容体細胞膜に高度に濃縮されているロドプシンは、活性化機序およびオプシンの機能を解明するためのモデル受容体として広範に使用されている。

【0006】

ロドプシンは、細胞膜7回貫通アポタンパク質のオプシンおよびレチノイドをベースとした発色団を含む (Hargrave および McDowell, 1992年; Yarfitz および Hurley, 1994年の総説参照)。基底または不活性状態では (すなわち光の非存在下で)、発色団、すなわち通常11-シス-レチナールは、プロトン化シッフ塩基を介して、第7細胞膜貫通セグメントの中間の高度に保存されたリジン残基に共有結合している。全ての脊椎動物の視覚オプシンが、プロトン化シッフ塩基の対イオンとして作用する、細胞膜貫通第3ヘリックスの高度に保存されたグルタメート残基を含む。11-シス-レチナールは、インバースアゴニストとして作用し、それ自体、部分的に活性であるアポタンパク質の不活性コンフォメーションを誘導すると推定されている (Cohenら、1993年; Suryaら、1995年)。光子の吸収時に、11-シス-レチナールは、アゴニストである全トランス-レチナールに異性体化され、これはオプシンに歪みを導入し、分子のコンフォメーション変化カスケードを開始する。ロドプシンは、最初に、バソロドプシン、次いで順次ルミロドプシン、メタロドプシンIおよびメタロドプシンII状態に変換される。これらの大半の一過性コンフォメーション状態を生化学的に研究するのは困難であるが、それらは、各状態が独特の吸収極大を有しているため、その分光学的特性に基づいて容

易に区別できる。実験的証拠により、比較的安定な状態であるメタロドプシンIIの形成は、シッフ塩基の脱プロトン化を含み、アポタンパク質の活性コンフォメーションを示すことが示唆される。この状態において、オプシンは、同族Gタンパク質を活性化し、細胞内シグナル伝達カスケードを開始し、これにより最終的に、視覚情報が脳に移行される。シッフ塩基結合の加水分解時に、メタロドプシンIIは崩壊して、遊離全トランス-レチナールおよびオプシンとなる。全トランス-レチナールは、隣接レチナール色素上皮細胞に輸送され、そこで、酵素反応を介して11-シス-レチナールに変換される。11-シス-レチナールは、レチナール光受容体に輸送して戻され、そこで、それはオプシンアポタンパク質と再結合して、ロドプシン分子を再生する。

【0007】

全ての視覚オプシンが実質的に、ロドプシンと同じ活性化機序を使用するが、脊椎動物と無脊椎動物の視覚オプシンの間には認知できる差異がある(GartnerおよびTowner、1995年; YarfitzおよびHurley、1994、Terakitaら、1998年; Arnheiter、1998年)。脊椎動物視覚色素の活性化により、主に、 G_q -タンパク質(トランスデューシンとしても知られる)が刺激され、cGMPホスホジエステラーゼ活性が増加する。このシグナル伝達カスケードの開始により、最終的に、カチオンチャンネルが閉鎖し、細胞は過分極する。これに対し、ヤリイカおよびショウジョウバエなどの無脊椎動物のオプシン視覚色素は、 G_o -タンパク質を活性化し、細胞内 IP_3 および Ca^{2+} レベルを上昇させる(Woodら、1989年; Nobesら、1992年; YarfitzおよびHurley、1994年)。脊椎動物と無脊椎動物の視覚オプシンの間の別の主要な差異は、受容体の活性コンフォメーションの安定性である。ロドプシンの活性コンフォメーションである、脊椎動物メタロドプシンIIの形成の後に、迅速に、シッフ塩基結合の加水分解が生じ、次いで、メタロドプシンIIは、遊離全-トランス-レチナールおよびオプシンアポタンパク質に解離する。細胞膜貫通第3ヘリックスのグルタメート対イオンは、加水分解反応を補助することが示唆されている(GartnerおよびTowner、1995年)。これに対し、無脊椎動物のメタロドプシンは

、熱的に安定な状態を示し、ここでは、発色団はアポタンパク質に付着したままである (Kiselev および Subramaniam、1994年)。これにより、アポタンパク質内で全トランス - レチナールが 11 - シス - レチナールに迅速に光異化して戻り、ロドプシンが迅速に再生され、従って、レチナール再生組織の必要がなくなる (Provencio ら、1998年)。無脊椎動物感光色素の熱的準安定状態は、無脊椎動物視覚オプシンの細胞膜貫通第3ヘリックスにグルタメート対イオンが存在しないことに因り形成され得る (Gartner および Towner、1995年)。

【0008】

大半のオプシンは、カロテノイド由来の 11 - シス - レチナールを発色団として使用するが、しかし、いくつかのオプシンは、11 - シス - レチナールの 3 - ヒドロキシ、4 - ヒドロキシまたは 3, 4 - デヒドロ異性体を発色団として使用して、置換カロテノイドを豊富に利用できることに適応する (Gartner および Towner、1995年)。異なるオプシンが、異なる波長を有する光子に応答し、この現象はスペクトル同調として知られる。特定のレチナール誘導体を発色団として使用することは、スペクトル特異性に寄与するが (Gartner および Towner、1995年)、スペクトル同調の主要な決定因子は、レチナール結合部位を囲む独特なアミノ酸の存在である (Kochendoerfer ら、1999年)。例えば、ロドプシンの細胞膜貫通第3ヘリックス中の高度に保存されたグリシンを、次第にサイズを増加させたアミノ酸で置換することにより、青波長に向けて λ_{max} は進行的にシフトする (Han ら、1996年)。同様に、保存非極性残基を、ヒドロキシルアミノ酸で置換すると、オプシンは緑吸収分子から赤吸収分子へと変化する (Chan ら、1992年)。

【0009】

視覚オプシンは、オプシン研究の最前線にあるが、科学者は、今、心リズムおよび生殖などの生理学的プロセスに関与している可能性から、非視覚オプシン (視覚情報の伝達に関与していないオプシン) に注目を向けつつある。非哺乳類脊椎動物における非視覚感光色素の存在は、最初に、カール・フォン・フリッシュ (Karl von Frisch) により示唆された。彼は、欧州の小魚の皮

膚が、眼および松果体の非存在下でさえ、光に応答して色を変化させることを実証し、間脳中の光受容エレメントを仮説した (Fosterら、1994年)。非視覚感光色素の存在を支持するさらなる証拠が、盲目ヤツメウナギおよびアヒルで得られ、これは、照明に対してそれぞれ生体運動および性腺誘導で応答した (Fosterら、1994年)。組織化学的技術を使用した近年の研究により、これらの生理学的観察がさらに確認された。Silverら (1988年) は、モリバト、ウズラおよびアヒルの脳において、脳脊髄液 (CSF) 接触ニューロンを抗オプシン抗体で免疫染色した。同様に、トカゲ *Anolis carolinensis* の基底脳内のCSF接触ニューロンの強力な免疫染色が、抗錐体オプシン抗体を用いて観察された (Fosterら、1993年)。

【0010】

数個の非視覚オプシンの近年の分子クローニングは、上記の研究と一致する。ピノプシンは、ニワトリの松果体に発現され、心リズムに役割を果たすと考えられる (Okanoら、1994年; Maxら、1995年)。興味深いことに、ピノプシン遺伝子の発現は、光により調節される (Takanakaら、1998年)。Maxら (1998年) は、ピノプシンによるトランスデューシンの光依存的活性化を実証し、これは、ピノプシンが機能的な光受容体であることを示す。松果体細胞で同定された2つの他のオプシンは、魚のサケからクローニングされた古脊椎動物 (VA) オプシン (Soniら、1997年; Soniら、1998年)、およびナマズからクローニングされたパラピノプシン (BlackshawおよびSnyder、1997年) である。松果体細胞に加えて、VAオプシンはまた、サケ網膜の無軸索および水平細胞にも局在する。一方、パラピノプシンの発現は、ナマズの副松果体および松果体器官に局限する。

【0011】

いくつかの非視覚オプシンは、事実、眼にも発現されている。Sunら (1997年) は、ヒト網膜およびマウス眼からペロプシンをクローニングした。このオプシンは、専ら、網膜色素上皮 (RPE) 細胞の頂端膜の微絨毛に局在し、これは、ロドプシンまたは錐体オプシンの隣接外膜に産生されるレチノイドのセンサーとして機能し得ることを示す。RPEレチナルGタンパク質共役受容体 (

RGR)は、RPEに見られる別の受容体である(Taora、1998年)。形質膜に存在すると考えられる他のオプシンとは異なり、RGRは、細胞内に局在する。RGRのアミノ酸配列により、ヤリイカレチノクロムと共に、それは、別個のオプシンファミリーを形成し得ることが示唆される(Hara-Nishimuraら、1990年)。

【0012】

興味深いことに、RGRは、リガンドとして、11-シス-レチナールよりも、全トランス-レチナールを優先し得、全トランス異性体から11-シス異性体への光異化に関与し得ることが示唆されている(HaoおよびFong、1999年)。かかる場合では、その機能は、視覚サイクルに使用するための、RPEでの11-シス-レチナールの迅速な再生であり得る。

【0013】

既知の光感受性プロセスの1つは、アフリカツメガエルの皮膚メラニン保有細胞におけるメラノソーム分散である。これに従って、メラノプシンが、メラニン保有細胞からクローニングされた(Provencioら、1998年)。メラノプシンは、メラニン保有細胞、視床下部の視交差上核および視索前核、虹彩、RPEおよび網膜で発現される。視覚および非視覚組織でのその発現により、視覚および非視覚光感受性現象における役割が示唆される。近年、非視覚オプシンが、哺乳類の脳で同定された。BlackshawおよびSynder(1999年)は、エンセファロプシンをクローニングし、これは、その名称が示唆するように、脳の様々な領域で高度に発現されている。それは、視床下部の視索前野および室傍核、大脳皮質、小脳プルキンエ細胞、線条体、視床および脊髄前角に存在する。興味深いことに、この受容体は眼には存在しない。

【0014】

非視覚オプシンの分子同定により、数個の疑問が生じた。どのようにそれらは活性化されるのか。その生理機能は何か。現在までにクローニングされた全ての非視覚オプシンが、第7細胞膜貫通ヘリックス中にリジンを含み、これはレチナール発色団の付着する部位であり、このことは、レチノイドが、視覚オプシンと同じように、非視覚オプシンの発色団であり得ることを示す。数個のグループが

、レチノイドを用いて非視覚オプシンを再構成し、それらを光で活性化することに成功している (Okanoら、1994年; Soniら、1998年)。レチノイドは、血液脳関門を、低い効率ではあるが通過できる (Pardridgeら、1985年; Frankeら、1999年)。さらに、レチノイドに高い親和性を有する輸送体である - トレースが、近年、認識されている (Tanakaら、1997年)。この分泌タンパク質は、高レベルでCSFに存在し、血漿中RBPと類似して、脳の異なる領域にレチノイドを輸送し得る。レチノイドが実際に脳に存在するという事は、HPLC分析を使用してAnolis前脳におけるレチナル異性体を同定できた、Fosterら (1993年) により実証された。レチナル異性体が、実際、非視覚オプシンの発色団であれば、異性体を光異化し、受容体を活性化するのに光が必要であろう。数個の報告により、光は、脳部深い領域に到達できることが示唆され (MullerおよびWilson、1986年; Graceら、1996年; BlackshawおよびSnyder、1999年)、皮質切片に対する光の神経伝達物質遊離増強効果が観察された (Wadeら、1988年)。それ故、非視覚オプシンの活性化機序は、視覚オプシンと類似し得る。しかし、ここで、いくつかの非視覚オプシンは、レチナル異性体を用いた機能的再構成に抵抗性であることが判明し (Provencioら、1998年; BlackshawおよびSnyder、1999年)、これらの受容体は、非レチノイドリガンドを使用し、活性化に光を必要としない可能性が生じる。

【0015】

非視覚オプシンの機能は何であろうか。1つの興味深い可能性は、それらが、心リズムに関与し得るというものである。心リズムは、光-暗サイクルにより調節される、生物活性の日週のゆらぎを示す。それは3つの成分：光活性入力、周期現象を示す概日時計自体、および出力としての行動的および生理的周期的変動からなる。動物の、光同調として知られる現象では、光への曝露により、心リズムが調節される。しかし、光同調を媒介する光受容分子の実体は、依然として謎である。光同調応答は、500nmの波長で生じるので、オプシンが応答を媒介し得ると示唆されている (Foster、1998年)。Freedmanら (

1999年)およびLucasら(1999年)は、近年、光同調は、桿体および錐体受容体を欠失したマウスでは損なわれなかったが、しかし、これらのマウスの眼の除去により、心リズム並びにメラトニン合成に対する光の効果は消失したことが実証された。これらの結果、および数個の非視覚オプシンの眼の局在により、心リズムの光同調における、眼の非視覚オプシンの役割が強く支持される。さらに、CNSに局在する非視覚オプシンは、概日時計自体の1成分を形成し得る。

【0016】

非視覚オプシンが、実際に、心リズムの調節に関与する場合、それらは、心リズム関連容態の魅力的な治療標的を示す。これらは、時差ボケなどの睡眠障害を含む。心リズムの変化は、不眠、睡眠相進行症候群および睡眠相後退症候群などの睡眠障害の基礎的な原因であり得ることが示唆されている(Sedgwick、1998年; Refinetti、1999年)。さらに、生体時計と労働時間との間の解離は、シフト労働関連睡眠障害を生じ得る。重要には、明るい光による療法が、これらの障害に役立つことが実証された(Rosenthalら、1990年; LackおよびWright、1993年; Campbellら、1995年; MurphyおよびCampbell、1996年; Cookeら、1998年; Refinetti、1999年)。同様に、適切な時間に光に曝露することにより、旅行者の時差ボケの作用は減少する(Refinetti、1999年)。これらの観察により、非視覚オプシンは、心リズム関連障害における、これらの光の有益な効果を媒介し得ることが示唆される。

【0017】

非視覚オプシンはまた、季節性情動障害(SAD)にも役割を果たし得る。この障害は、冬の間うつ病に罹患している人々の亜個体群により特徴づけられる。光治療は、これらの人々に効果的であり(TermanおよびTerman、1999年)、特に、緑の光は赤の光よりも効果的である(Orenら、1991年)。近年、磁場と特殊光受容体の相互作用は、光に対する、SADに罹患する患者の感受性に影響を及ぼし得ると仮説されている(Partonen、1998年)。

【0018】

さらに、CNS領域における様々なオプシンの慎重な局在により、CNS関連生理および障害における役割を有する可能性が示される。

【0019】

非視覚光受容体はまた、メラニン保有細胞におけるメラノソーム分散に関与し、従って、様々な種における皮膚の色の変化にも関与する。鳥類および哺乳類では、非視覚「深部脳光受容体」はまた、生殖行動および光周期性腺応答にも関連する(YoshikawaおよびOishi、1998年)。

【0020】

要約すると、オプシンは、GPCRスーパーファミリーの重要な分枝を構成する。それらは、光感受性エレメントとして作用する。それらは、網膜、および、脳を含む非網膜位置に局在する。網膜桿体および錐体オプシンは、主に、視覚情報を脳に伝達するのに関与し、一方、網膜およびその他の場所での非視覚オプシンは、メラトニン合成および心リズムの調節、光同調、SAD、皮膚色の变化および迷彩、および生殖行動に関与し得る。

【0021】

(発明の要約)

本発明は哺乳類SNORF36受容体をコード化している単離核酸を提供する。

【0022】

本発明はさらに、精製した哺乳類SNORF36受容体タンパク質を提供する。

【0023】

本発明はまた、本発明に従った核酸を備えるベクターを提供する。

【0024】

本発明はまたさらに、本発明に従ったベクターを含む細胞を提供する。

【0025】

本発明はさらに、本発明に従った細胞から単離した膜調製品を提供する。

【0026】

さらに、本発明は、少なくとも15のヌクレオチドを備える核酸プローブを提供し、このプローブは、哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸と特異的にハイブリッド結合し、ここで、本プローブは、プラスミドp cDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号第203977号)、プラスミドp cDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号第203976号)、プラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号第PTA-534号)またはプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号第PTA-1216号)をコード化している核酸の二本鎖のうちの1本内に存在する固有の配列に相補的な配列を持つ。

【0027】

本発明はさらに、少なくとも15のヌクレオチドを備える核酸プローブを提供し、このプローブは哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸と特異的にハイブリッド形成し、ここで本プローブは、(a)図1A-1C(配列番号:1)で示した核酸配列、(b)その逆相補配列内に存在する固有の配列に相補的な配列を持つ。

【0028】

本発明はさらに、少なくとも15のヌクレオチドを備える核酸プローブを提供し、このプローブは哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸と特異的にハイブリッド形成し、ここで本プローブは、(a)図3A-3C(配列番号:3)で示した核酸配列、(b)その逆相補配列内に存在する固有の配列に相補的な配列を持つ。

【0029】

本発明は、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているRNAの翻訳を防止するために、そのようなRNAに特異的にハイブリッド形成可能である配列を持つアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。

【0030】

本発明はさらに、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているゲノムDNAの転写を防止するために、そのようなゲノムDNAに特異的にハイブリッド形成可能である配列を持つアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。

【0031】

本発明はまた、本発明に従った核酸によってコード化された哺乳類SNORF 36受容体に結合可能である抗体を提供する。

【0032】

さらに、本発明は、哺乳類SNORF 36受容体に対する、本発明に従った抗体の結合を競合的に阻害可能である薬剤を提供する。

【0033】

本発明はまたさらに、(a)哺乳類SNORF 36受容体の発現を減少させるのに効果的な量の、細胞膜を通過可能である本発明に従ったオリゴヌクレオチド、(b)細胞膜を通過可能な製薬上許容され得る担体、を備える薬学的組成物を提供する。

【0034】

本発明はまた、ヒトSNORF 36受容体に対するリガンドの結合を阻害するのに効果的な量の、本発明に従った抗体、および製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。

【0035】

本発明はさらに、本発明に従った、哺乳類SNORF 36受容体をコード化しているDNAを発現している、トランスジェニック、非ヒト哺乳類を提供する。

【0036】

本発明はまたさらに、野生型哺乳類SNORF 36受容体のノックアウトする相同組換えを含む、トランスジェニック、非ヒト哺乳類を提供する。

【0037】

本発明はさらに、そのゲノムが、哺乳類SNORF 36をコード化しているmRNAの翻訳および哺乳類SNORF 36受容体の発現を減少させるために、そのような受容体をコード化しているそのようなmRNAと相補的であり、ハイブリッド形成するアンチセンスmRNA内に転写されるように、ゲノム内に配置するような、本発明に従った哺乳類SNORF 36受容体をコード化しているDNAに相補的なアンチセンスDNAを含むような、トランスジェニック、非ヒト哺乳類を提供する。

【0038】

本発明は、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAを含み、その細胞表面上に発現している細胞を、結合に好適な条件下で、化合物と接触させること、および哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の特異的な結合を検出することを備える、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化学化合物を同定するための方法を提供し、そこでそのような細胞は哺乳類SNORF36受容体を正常に発現していない。

【0039】

本発明はさらに、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAを含み、その細胞表面上に発現している細胞からの膜調製品を、結合に好適な条件下で、化合物と接触させること、および哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の特異的な結合を検出することを備える、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化学化合物を同定するための方法を提供し、そこでそのような細胞は哺乳類SNORF36受容体を正常に発現していない。

【0040】

本発明はまたさらに、その細胞表面に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞を、受容体へのそのような化合物の結合に好適である条件下で、化学化合物および受容体に結合することが知られている第二化学化合物両方と、および第二化学化合物のみと別々に接触させること、および哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の特異的な結合を検出することを備える哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化学化合物を同定するための競合的結合を含む工程を提供し、そこでそのような細胞は哺乳類SNORF36受容体を正常に発現しておらず、試験している化学化合物の存在下での哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の結合の減少は、そのような化学化合物が哺乳類SNORF36受容体に結合することを示唆している。

【0041】

本発明はさらに、その細胞表面に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞からの膜調製物を、受容体へのそのような化合物の結合に好適である条件下で、化学化合物および受容体に結合することが知られている第二化学化合物両方

と、および第二化学化合物のみと別々に接触させること、および哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の特異的結合を検出することを備える哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化学化合物を同定するための競合的結合を含む工程を提供し、そこでそのような細胞は通常哺乳類SNORF36受容体は発現しておらず、試験している化学化合物の存在下での哺乳類SNORF36受容体への化学化合物の結合の減少は、そのような化学化合物が哺乳類SNORF36受容体に結合することを示唆している。

【0042】

本発明はさらに、本発明の工程の1つによって同定された化合物を提供する。

【0043】

本発明は、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を同定するために、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られていない多数の化学化合物をスクリーニングする方法を提供し、それにはこのことによって哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合するそこに含まれる任意の化合物を同定するために、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAをトランスフェクトし、発現している細胞を、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合することが知られている化合物と接触させること、(b)工程(a)の細胞を、哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物の結合を許容する条件下で、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合することが知られていない化合物と接触させること、(c)哺乳類SNORF36に結合することが知られている化合物の結合が、多数の化合物が存在しない状態での化合物の結合と比較して、多数の化合物の存在下で減少したかどうか決定すること、もしそうであれば(d)多数の化合物内に含まれるそれぞれの化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別々に決定することを備える。

【0044】

本発明は、さらに哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を同定するために、多数の哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られていない化学化合物をスクリーニングするための方法を提供し、それにはこのことによって哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合するそこに含まれる任意の化

化合物を同定するために、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAをトランスフェクトし、発現している細胞からの膜調製物を、多数の哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物の結合を許容する条件下で、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合することが知られていない化合物と接触させること、(b)哺乳類SNORF36受容体に結合することが知られている化合物の結合が、多数の化合物が存在しない状態での化合物の結合と比較して、多数の化合物内の任意の化合物の存在下で減少したかどうか決定すること、もしそうであれば(c)多数の化合物内に含まれるそれぞれの化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別々に決定することを備える。

【0045】

本発明はまた、細胞からのトータルmRNAを得ること、およびハイブリッド形成条件下で、そのようにして入手したmRNAと本発明に従った核酸プローブを接触させること、プローブにハイブリッド形成したmRNAの存在を検出すること、およびそれによって細胞による哺乳類SNORF36受容体の発現を検出することを備える哺乳類SNORF36受容体についてコード化しているmRNAの存在を検出することで、哺乳類SNORF36受容体の発現を検出する方法を提供する。

【0046】

本発明はさらに、細胞を、抗体の受容体への結合を許容する条件下で、本発明に従った抗体と接触させること、細胞に結合した抗体の存在を検出すること、およびそれによって細胞表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出することを備える、細胞の表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出する方法を提供する。

【0047】

本発明はまたさらに、その哺乳類SNORF36受容体活性のレベルが、哺乳類SNORF36受容体発現を調節する誘導可能なプロモーターの使用によって変更される本発明に従ったトランスジェニック、非ヒト動物を産出することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性のレベルを変更することの生理学的効果を決定する方法を提供する。

【0048】

本発明は、さらに、それぞれ異なった量の哺乳類SNORF36受容体を発現している本発明に従ったトランスジェニック、非ヒト動物のパネルを産出することを含む、哺乳類SNORF36受容体の活性のレベルを変更することの生理学的効果を決定する方法を提供する。

【0049】

さらに、本発明は、本発明に従ったトランスジェニック、非ヒト動物に化合物を投与すること、およびこの化合物が哺乳類SNORF36受容体の過剰活性の結果としてトランスジェニック、非ヒト動物によって表示された任意の生理学的および/または行動的異常を軽減できるかどうかを決定すること、を備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を減少させることによって異常が軽減される場合、対象における異常を軽減することができる拮抗物質を同定するための方法を提供し、そのような異常の軽減は化合物を拮抗物質として同定する。

【0050】

本発明はまた、前述の方法によって同定された拮抗物質を提供する。

【0051】

本発明はさらに、本発明に従った拮抗物質および担体、たとえば製薬上許容され得る担体を備える組成物、たとえば薬学的組成物を提供する。

【0052】

本発明は、それによって異常を処置するために、効果量の本発明に従った薬学的組成物を対象に投与することを備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を減少させることで異常が軽減される場合の、対象における異常を処置する方法を提供する。

【0053】

さらに、本発明は、本発明に従ったトランスジェニック、非ヒト動物に化合物を投与すること、および化合物がトランスジェニック、非ヒト動物によって表示された任意の生理学的および/または行動的異常を軽減できるかどうかを決定すること、を備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を増加させることによって異常が軽減される場合、対象における異常を軽減することができるアゴニスト

を同定するための方法を提供し、そのような異常の軽減は化合物をアゴニストとして同定する。

【0054】

本発明はさらに、本発明に従った前述の方法によって同定されたアゴニストを提供する。

【0055】

本発明はまたさらに、本発明に従ったアゴニストおよび担体、たとえば製薬上許容され得る担体を備える組成物、例えば薬学的組成物を提供する。

【0056】

さらに、本発明は、そのことによって異常を処置するために、効果量の本発明に従った薬学的組成物を対象に投与することを備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を増加させることで異常が軽減される場合の、対象における異常を処置する方法を提供する。

【0057】

またさらに、本発明は、(a)疾患を患っている対象のDNAを入手すること、(b)このDNAの制限酵素のパネルによる制限消化を実施すること、(c)得られたDNA断片をサイジングゲル上で電気泳動的に分離すること、(d)得られたゲルを、哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸分子の配列内に含まれ、検出可能マーカーで標識化した固有の配列と特異的にハイブリッド形成することが可能である核酸プローブと接触させること、(e)疾患を患っている対象のDNAに特異的な固有のバンドパターンを作製するために、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAに対してハイブリッド形成した標識化バンドを検出すること、(f)疾患をまだ患っていない対象から診断のために得たDNAで工程(a)~(e)を繰り返すこと、および(g)パターンが同一であるかまたは異なるかを決定することおよびそれによってパターンが同一の場合に疾患に対する疾病素因を診断するために、工程(e)からの疾患を患っている対象のDNAに特異的な固有のバンドパターンを、疾患をまだ患っていない対象に対する工程(f)からのバンドパターンと比較すること、を含む特異的な哺乳類対立形質の活性に関連した疾患に対する疾病素因を診断するための方法を

提供する。

【0058】

本発明はまた、(a)哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞を培養すること、(b)細胞からの哺乳類SNORF36受容体を回収すること、および(c)そのように回収した哺乳類SNORF36受容体を精製することを含む、本発明に従った精製哺乳類SNORF36受容体を調製する方法を提供する。

【0059】

本発明はさらに、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸を好適な発現ベクター内に挿入すること、(b)得られたベクターを好適な宿主細胞内に導入すること、(c)得られた宿主細胞を、哺乳類SNORF36受容体の産出を許容する好適条件に置くこと、(d)そのようにして産出された哺乳類SNORF36受容体を回収すること、および任意に(e)そのように回収した哺乳類SNORF36受容体を単離することおよび/または精製することを含む、本発明に従った精製哺乳類SNORF36受容体を調製する方法を提供する。

【0060】

さらに、本発明は、それによって化合物が哺乳類SNORF36受容体ゴニストであるかどうかを決定するために、哺乳類SNORF36受容体の活性化を許容する条件下で、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAをトランスフェクトし、発現している細胞を化合物と接触させること、および哺乳類SNORF36受容体活性の増加を検出することを備える、化学化合物が、哺乳類SNORF36受容体ゴニストであるかどうかを決定する工程を提供する。

【0061】

本発明はまた、それによって化合物が哺乳類SNORF36受容体ンタゴニストであるかどうかを決定するために、哺乳類SNORF36受容体の活性化を許容する条件下で、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAをトランスフェクトし、発現している細胞を化合物と接触させること、および哺乳類SNORF36受容体活性の減少を検出することを備える、化学化合物が、哺乳類SNORF36受容体ンタゴニストであるかどうかを決定する工程を提供する。

【0062】

本発明はまたさらに、哺乳類SNORF36受容体の活性を増加させるのに効果的な量の、本発明に従った工程によって決定した哺乳類SNORF36受容体ゴニストおよび担体、例えば薬学的に許容可能な担体を備える組成物、例えば薬学的組成物を提供する。1つの実施形態において、哺乳類SNORF36受容体ゴニストは先に知られてはいない。

【0063】

また、本発明は、哺乳類SNORF36受容体の活性を減少させるのに効果的な量の、本発明に従った工程によって決定した哺乳類SNORF36受容体ンタゴニストおよび担体、例えば薬学的に許容可能な担体を備える組成物、例えば薬学的組成物、を提供する。

【0064】

本発明はさらに、化学化合物が、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合し、そしてそれを活性化するかどうかを決定するための工程を提供し、それには、第二メッセンジャー応答を産出しており、その細胞表面上に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞を、哺乳類SNORF36受容体の活性化に好適な条件下で、化学化合物と接触させること、および化学化合物の存在下および非存在下での第二メッセンジャー応答を測定することが含まれ、そこでそのような細胞は通常SNORF36受容体は発現しておらず、化学化合物の存在下での第二メッセンジャー応答における変化、例えば増加は、化合物が哺乳類SNORF36受容体を活性化することを示唆している。

【0065】

本発明はまたさらに、化学化合物が哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合し、活性化を阻害するかどうかを決定する工程を提供し、それには、第二メッセンジャー応答を産出しており、その細胞表面上に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞を、哺乳類SNORF36受容体の活性化に好適な条件下で、化学化合物および哺乳類SNORF36受容体を活性化することが知られている第二化学化合物両方、および第二化学化合物のみと接触させること、および第二化学化合物のみの存在下、および第二化学化合物と化学化合物両方の存在下で

の第二メッセンジャー応答を測定することを備え、そこでそのような細胞は通常 SNORF 36 受容体は発現しておらず、第二化学化合物のみの存在下でよりも化学化合物および第二化学化合物両方の存在下での第二メッセンジャー応答において変化、例えば増加が小さいことは、化合物が哺乳類 SNORF 36 受容体を阻害することを示唆している。

【0066】

さらに、本発明は、哺乳類 SNORF 36 受容体の活性を増加させるのに効果的な量の、本発明に従った工程によってそうであると決定した哺乳類 SNORF 36 受容体ゴニストおよび担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える組成物、例えば薬学的組成物を提供する。

【0067】

本発明はまた、哺乳類 SNORF 36 受容体の活性化を減少させるのに効果的な量の本発明に従った工程によってそうであると決定した哺乳類 SNORF 36 受容体ンタゴニスト、および担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える組成物、例えば薬学的組成物を提供する。

【0068】

本発明はまたさらに、それによって哺乳類 SNORF 36 受容体を活性化するそれぞれの化合物を同定するために、(a) 哺乳類 SNORF 36 受容体をトランスフェクトし、発現している細胞を、哺乳類 SNORF 36 受容体の活性化を許容する条件下で、哺乳類 SNORF 36 受容体を活性化することが知られていない多数の化合物と接触させること、(b) 哺乳類 SNORF 36 受容体活性化が1つまたはそれ以上の化合物の存在下で増加するかどうかを決定すること、もしそうであれば(c) 哺乳類 SNORF 36 受容体の活性化が多数の化合物に含まれる任意の化合物によって増加するかどうかを別々に決定すること、を備える哺乳類 SNORF 36 受容体を活性化する化合物を同定するために、哺乳類 SNORF 36 受容体を活性化することが知られていない多数の化学化合物をスクリーニングする方法を提供する。

【0069】

本発明は、それによって哺乳類 SNORF 36 受容体の活性化を阻害するその

ような多数の化合物に含まれる任意の化合物を同定するために、(a) 哺乳類SNORF36受容体をトランスフェクトし、発現している細胞を、哺乳類SNORF36受容体の活性化を許容する条件下で、公知の哺乳類SNORF36受容体ゴニストの存在下で多数の化合物と接触させること、(b) そのような1つまたはそれ以上の化合物がない状態での哺乳類SNORF36受容体の活性化の程度または量と比較して、1つまたはそれ以上の化合物の存在下で哺乳類SNORF36受容体の活性化が減少するかどうかを決定すること、もしそうであれば(c) それぞれのそのような化合物が、多数の化合物に含まれるそれぞれの化合物に対する哺乳類SNORF36受容体の活性化を阻害するかどうかを別々に決定すること、を備える哺乳類SNORF36受容体の活性化を阻害する化合物を同定するために、哺乳類SNORF36受容体の活性化を阻害することが知られていない多数の化学化合物をスクリーニングする方法を提供する。

【0070】

本発明はまた、哺乳類SNORF36受容体活性を増加させるのに効果的な量で本発明に従った方法によって同定された化合物、および担体、たとえば製薬上許容され得る担体を備える組成物、たとえば薬学的組成物を提供する。

【0071】

本発明はまたさらに、哺乳類SNORF36受容体活性を減少させるのに効果的な量で本発明に従った方法によって同定された化合物、および担体、たとえば製薬上許容され得る担体を含む組成物、たとえば薬学的組成物提供する。

【0072】

さらにまた本発明は、異常を処置するのに効果的な量で哺乳類SNORF36受容体ゴニストである化合物を対象に投与することを備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を増加させることによって異常が軽減される場合に、患者における異常を処置する方法を提供する。

【0073】

さらに本発明は、異常を処置するのに効果的な量で哺乳類SNORF36受容体アンタゴニストである化合物を対象に投与することを備える、哺乳類SNORF36受容体の活性を減少させることによって異常が軽減される場合に、患者にお

ける異常を処置する方法を提供する。

【0074】

本発明はまた、本発明に従った工程を用いて化学化合物を同定し、次いで化学化合物または新規構造および機能類似体またはその相同物を合成することを備える、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する物体の組成物を作製するための工程を提供する。

【0075】

本発明はさらに、担体、例えば製薬上許容され得る担体および製薬上に効果的な量の、本発明に従った工程で同定された化学化合物または新規構造および機能類似体またはその相同物を混ぜることを含む組成物、たとえば薬学的組成物を調製するための方法を提供する。

【0076】

発明の詳細な説明

本発明は哺乳類SNORF36a受容体をコード化する核酸を備える組換え体核酸にあって、該哺乳類受容体をコード化する核酸が高厳密条件下にてヒトSNORF36a受容体をコード化し、且つプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-fに含まれる核酸をコード化するヒトSNORF36a受容体をコード化する核酸の配列(ATCC特許寄託番号203977)に同一である配列を有する核酸にハイブリッド形成する組換え体核酸を提供する。

【0077】

本発明はさらにヒトSNORF36a受容体をコード化する核酸を備える組換え体核酸にあって、該ヒトSNORF36a受容体が図1A-1C(配列番号1)に表示の最短オープンリーディングフレームの配列に同一であるアミノ酸配列を備える組換え体核酸を提供する。

【0078】

本発明は哺乳類SNORF36b受容体をコード化する核酸を備える組換え体核酸にあって、該哺乳類受容体をコード化する核酸が高厳密条件下にヒトSNORF36a受容体をコード化し且つプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-fに含まれる核酸をコード化するヒトSNORF36a受容体をコード

化する核酸の配列 (ATCC 特許寄託番号 203976) に同一である配列を有する核酸にハイブリッド形成する組換え体核酸を提供する。

【0079】

本発明はまたヒト SNORF 36 a 受容体をコード化する核酸を備える組換え体核酸にあって、該ヒト SNORF 36 a 受容体が図 3 A - 3 C (配列番号 3) に表示の最短オープンリーディングフレームによりコード化されたヒト SNORF 36 b 受容体の配列に同一であるアミノ酸配列を備える組換え体核酸を提供する。

【0080】

本発明はまた上記の天然に生ずる対立遺伝子変異体をコード化する核酸を備える組換え体核酸も目的とする。例えばこのような対立遺伝子変異体は図 1 A - 1 C (配列番号 1) 内位置 39 でのグアニン (G) からアデニン (A) への変化を含む。このような対立遺伝子変異体の別の例は、図 3 A - 3 C (配列番号 3) 内位置 39 でのグアニン (G) からアデニン (A) への変化を含む。

【0081】

プラスミド p c DNA 3.1 - h SNORF 36 a - f およびプラスミド p c DNA 3.1 - h SNORF 36 b - f は共に米国標準株コレクション (ATCC)、10801 ユニバーシティーブルヴァル (University Blvd.)、マナサス (Manassas)、バージニア (Virginia) 20110 - 2209、米国に特許手続き上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に従い 1999 年 4 月 28 日に寄託され、それぞれ ATCC 特許寄託番号 203977 及び 203976 に一致する。

【0082】

プラスミド p EX J . T 3 T 7 - r SNORF 36 p は 1999 年、8 月 17 日に米国標準株コレクション (ATCC)、10801 ユニバーシティーブルヴァル、マナサス、バージニア 20110 - 2209、米国に特許手続き上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に従い寄託され、ATCC 特許寄託番号 P T A - 5 3 4 に一致する。

【0083】

プラスミド pEXJ.T7-rSNORF36-f は 2000 年、1 月 18 日に米国標準株コレクション (ATCC)、10801 ユニバーシティーブルヴァル、マナサス、バージニア 20110-2209、米国に特許手続き上の微生物寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に従い寄託され、ATCC 特許寄託番号 PTA-1216 に一致する。

【0084】

ハイブリッド形成法は当業者によく知られている。本発明の目的に関しては高厳密条件下のハイブリッド形成は、40 度、50% フォルムアミド、5×SSC、7mM Tris、1×デンハルト (Denhardt's)、25 μg/ml サケ精子 DNA を含むハイブリッド形成バッファー中にて実施され、50、0.1×SSC、0.1% SDS 中にて洗浄されるハイブリッド形成を意味する。

【0085】

本アプリケーションを通じ、特異的ヌクレオチド塩基を示すために以下の標準的略語が用いられる：

A = アデニン

G = グアニン

C = シトシン

T = チミン

M = アデニン又はシトシン

R = アデニン又はグアニン

W = アデニン又はチミン

S = シトシン又はグアニン

Y = シトシン又はチミン

K = グアニン又はチミン

V = アデニン、シトシン又はグアニン (チミンではない)

H = アデニン、シトシン又はチミン (シトシンではない)

B = シトシン、グアニン又はチミン (アデニンではない)

N = アデニン、シトシン、グアニン又はチミン (又はイノシンの様なその他の修

飾型塩基)

I = イノシン

更に用語「アゴニスト」は本明細書を通し本発明のポリペプチドの活性を増加するペプチド又は非ペプチジル化合物を示すのに使用される。用語「拮抗物質」は本明細書を通し本発明のポリペプチドの活性を低下するペプチド又は非ペプチジル化合物を示すのに使用される。

【0086】

更にここに使用される句「製薬上許容され得る担体」は、標準的な製薬上許容され得る担体の何れかを意味する。例はリン酸緩衝化食塩水、生理食塩水、水及び油/水乳剤の様な乳剤を含むが、これらに限定されるものではない。

【0087】

哺乳類SNORF36受容体遺伝子はイントロンを含むことができ、また更にコーディング又は非コーディング域内に追加のイントロンが存在できる可能性がある。更にmRNAのスプライス型は、現在規定されている開始メチオニンの上流又はコーディング域内に追加のアミノ酸をコード化するだろう。更に代替エクソンの存在及び使用が可能であり、その場合にはmRNAはエクソンを備える領域内に異なるアミノ酸をコード化するだろう。更に単一アミノ酸置換は、発現タンパク質のアミノ酸配列が元の遺伝子によりコード化されたタンパク質と異なる様なRNA編集のメカニズムを介し起こるだろう。(Burnsら、1996、Chuら、1996)。この様な変異体は元の遺伝子によりコード化されたポリペプチドとは異なる薬理特性を有するだろう。

【0088】

本発明はここに開示した哺乳類SNORF36受容体のスプライス変異体を提供する。本発明は更に別の翻訳開始部位、及び本発明のSNORF36受容体をコード化する核酸の別スプライス又は編集変異体を提供する。

【0089】

本発明はまたここに開示されたSNORF36受容体の天然に発生する対立遺伝子変異体をコード化する核酸を備える組換え体核酸も目的とする。

【0090】

本発明の核酸はヒトSNORF36a受容体遺伝子の核酸類似体であって、前記ヒトSNORF36a受容体遺伝子が図1A-1Cに示される核酸配列(配列番号1)又はプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる核酸配列を備えるものである核酸類似体も備える。ヒトSNORF36受容体遺伝子の核酸類似体は1つ以上の核酸塩基の同一性または位置に関し、ここに記載のヒトSNORF36受容体遺伝子と異なっており(図1A-1Cに示される、又はプラスミド3.1-hSONRF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる核酸塩基の全てより少ないものを含む欠失類似体、図1A-1Cに示される又はプラスミド3.1-hSONRF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる1つ以上の核酸塩基が他の核酸塩基に置換されている置換類似体、及び核酸配列の末端又は中央部分に1つ以上の核酸塩基が付加される類似体)、そして図1A-1Cに示される、又はプラスミド3.1-hSONRF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる核酸塩基によりコード化されたタンパク質の特性の一部又は全てを共有するタンパク質をコード化している。本発明の実施形態の一つでは、核酸類似体は図2A-2Bに示される、又はpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。別実施形態では、核酸類似体は図2A-2Bに示される、又はpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と異なるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。更に別の実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質は図2A-2Bに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能と同一である機能を有する。別実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質の機能は図2A-2Bに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能とは異なる。別実施形態では、核酸配列の変異はタンパク質の膜貫通(TM)領域内に発生する。更に別の実施形態では、核酸配列内の変異はTM領域の外に起こる。

【0091】

本発明の核酸はヒトSNORF36b受容体遺伝子の核酸類似体であって、該ヒトSNORF36b受容体遺伝子が図3A-3Cに示される又はプラスミド3.1-hSONRF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれる核酸配列(配列番号3)を含むものである核酸類似体も備える。ヒトSNORF36b受容体遺伝子の核酸類似体はここに記載のヒトSNORF36b受容体遺伝子とは、1つ以上の核酸塩基の同一性または位置に関し異なっており(図3A-3Cに示される、又はプラスミド3.1-hSONRF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれる核酸塩基の全てより少ないものを含む欠失類似体、図3A-3Cに示される又はプラスミド3.1-hSONRF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれる1つ以上の核酸塩基が他の核酸塩基に置換されている置換類似体、及び核酸配列の末端又は中央部分に1つ以上の核酸塩基が付加される類似体)、そして図3A-3Cに示される、又はプラスミド3.1-hSONRF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれる核酸塩基によりコード化されたタンパク質の特性の一部又は全てを共有するタンパク質をコード化している。本発明の実施形態の一つでは、核酸類似体は図4A-4Cに示される、又はpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。別実施形態では、核酸類似体は図4A-4Cに示される、又はpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203976)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と異なるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。更に別の実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質は図4A-4Cに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能と同一である機能を有する。別実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質の機能は図4A-4Cに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能とは異なる。別実施形態では、核酸配列の変異はタンパク質の膜貫通(TM)領域内に発生する。更に別の実施形態では、核酸配列内の変異はTM領域の外に起こる。

【0092】

本発明の核酸は更にラットSNORF36受容体遺伝子の核酸類似体において、該ラットSNORF36受容体遺伝子が図5に示される、又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる核酸配列を備えるものである核酸類似体も備える。ラットSNORF36受容体遺伝子の核酸類似体は1つ以上の核酸塩基の同一性または位置に関しここに記載のラットSNORF36受容体遺伝子と異なっており(図5に示される又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる核酸塩基の全てより少ないものを含む核酸塩基欠失類似体、図5に示される又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる1つ以上の核酸塩基が他の核酸塩基に置換されている置換類似体、及び核酸配列の末端又は中央部分に1つ以上の核酸塩基が付加される類似体)、そして図5に示される、又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる核酸塩基によりコード化されたタンパク質の特性の一部又は全てを共有するタンパク質をコード化している。本発明の実施形態の一つでは、核酸類似体は図6に示される、又はpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。別実施形態では、核酸類似体は図6に示される、又はpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と異なるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。更に別の実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質は図6に示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能と同一の機能を有する。別実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質の機能は図6に示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能とは異なる。別実施形態では、核酸配列の変異はタンパク質の膜貫通(TM)領域内に発生する。更に別の実施形態では、核酸配列内の変異はTM領域の外に起こる。

【0093】

本発明の核酸は更にラットSNORF36受容体遺伝子の核酸類似体において

、該ラットSNORF36受容体遺伝子が図9A-9Cに示される、又はプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる核酸配列を備えるものである核酸類似体も備える。ラットSNORF36受容体遺伝子の核酸類似体は1つ以上の核酸塩基の同一性または位置に関しここに記載のラットSNORF36受容体遺伝子と異なっており(図9A-9Cに示される、又はプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる核酸塩基の全てより少ないものを含む核酸塩基欠失類似体、図9A-9Cに示される、又はプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる1つ以上の核酸塩基が他の核酸塩基に置換されている置換類似体および核酸配列の末端又は中央部分に1つ以上の核酸塩基が付加される類似体)、更に図9A-9Cに示される又はプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる核酸塩基によりコード化されたタンパク質の特性の一部又は全てを共有するタンパク質をコード化している。本発明の実施形態の一つでは、核酸類似体は図10A-10Cに示される、又はpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。別の実施形態では、核酸類似体は図10A-10Cに示される、又はpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれる核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列と異なるアミノ酸配列を有するタンパク質をコード化する。更に別の実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質は図10A-10Cに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能と同一の機能を有する。別実施形態では、核酸類似体によりコード化されるタンパク質の機能は図10A-10Cに示されるアミノ酸配列を有する受容体タンパク質の機能とは異なる。別実施形態では、核酸配列の変異はタンパク質の膜貫通(TM)領域内に発生する。更に別の実施形態では、核酸配列内の変異はTM領域の外に起こる。

【0094】

本発明は上記の分離された核酸にあって、該核酸がDNAであるものを提供する。ある実施形態では、DNAはcDNAである。別実施形態ではDNAはゲノムDNAである。更に別の実施形態では、核酸はRNAである。核酸分子の製造及び処理に関する方法は当分野で良く知られている。

【0095】

本発明は更に、ここに記載のポリペプチドの何れかをコード化するDNAに関し退縮されている核酸を提供する。ある実施形態では、核酸は図1A-1C内に示されるヌクレオチド配列又はプラスミドp cDNA 3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)に含まれるヌクレオチド配列に関し退縮されるヌクレオチド配列、即ち同一アミノ酸配列に翻訳されるヌクレオチド配列を備える。別実施形態では、核酸は図3A-3C内に示されるヌクレオチド配列又はプラスミドp cDNA 3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれるヌクレオチド配列に関し退縮されるヌクレオチド配列、即ち同一アミノ酸配列に翻訳されるヌクレオチド配列を備える。

【0096】

別実施形態では、核酸は図5(配列番号5)又は図9A-9C(配列番号7)内に示されるヌクレオチド配列、又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)又はpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれるヌクレオチド配列に関し退縮されるヌクレオチド配列、即ち同一アミノ酸配列に翻訳されるヌクレオチド配列を備える。

【0097】

本発明は本発明のポリペプチドのアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列をコード化するが、表現形の変化は生じないDNA s及びcDNA sも包含する。

【0098】

あるいは本発明はまた本発明のDNA、cDNA及びRNAにハイブリッド形成するDNA s、cDNA s及びRNA sも包含する。ハイブリッド形成法は当業者に良く知られている。

【0099】

本発明の核酸はまた1つ以上のアミノ酸残基の同一性又は位置に関し天然に生ずる形態と異なっている抗原性ポリペプチドのポリペプチド類似体、断片又は誘導体(タンパク質に特異的な残基の全てより少ない塩基を含む欠失類似体、1つ以上の特異的残基が他塩基により置換されている置換類似体、およびポリペプチドの末端または中央部に1つ以上のアミノ酸塩基が付加される付加類似体)であり、更に天然に生ずる形状の一部又は全ての特性を共有するものをコード化する核酸分子も含む。これら分子は以下を含む: 選択された非哺乳類宿主による発現に「好適な」コドンの取り込み、制限エンドヌクレアーゼ酵素による切断に適した部位の準備、及び易発現ベクターの構築を促す追加の開始、終止又は中間DNA配列。ポリペプチド類似体の作製は当業者に良く知られている(Spurney, R. F. ら、(1997)、Fong, T. M ら、(1995)、Underwood, D. J. ら、(1994)、Graziano, M. P. ら(1996)、Guan X. M. ら(1995))。

【0100】

本発明の修飾ポリペプチドは当分野公知の方法、例えばここに開示の方法を使用し一過性、又は安定的にトランスフェクションされる。本発明は更に修飾ポリペプチドを使用する結合アッセイにあって、前記ポリペプチドが一過性に、又は安定型細胞株に発現されるアッセイも提供する。本発明は更にここに開示された結合アッセイの様な結合アッセイ法に修飾ポリペプチドを使用して特定された化合物も提供する。

【0101】

ここに記載されクレームされる核酸は、ポリペプチドのアミノ酸配列に関する情報、及び各種組換え体技術によるポリペプチドの大規模合成に関する産物として有用である。核酸分子は新規のクローニングと発現用ベクター、形質転換され、トランスフェクションされた前核生物及び真核生物宿主細胞、及びポリペプチドと関連産物を発現できるこれら宿主細胞の培養増殖に適した新規、有用な方法の作成にとって有益である。

【0102】

本発明は更に図1A-1C(配列番号1)に示される核酸配列によりコード化

される、又はプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) にコード化される SNORF 3 6 受容体の種相同体をコード化している分離核酸も提供する。実施形態の一つでは、核酸はプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) によりコード化された SNORF 3 6 受容体と実質同一のアミノ酸配列を持つ哺乳類 SNORF 3 6 受容体相同体をコード化している。別実施形態では、核酸はプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) によりコード化された SNORF 3 6 受容体と 7 5 % より高いアミノ酸同一性を持つ、好ましくはプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) によりコード化された SNORF 3 6 受容体と 8 5 % より高いアミノ酸同一性を持つ、最も好ましくはプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) によりコード化された SNORF 3 6 受容体と 9 5 % より高いアミノ酸同一性を持つ哺乳類 SNORF 3 6 受容体相同体をコード化している。別の実施形態では、哺乳類 SNORF 3 6 受容体相同体はプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) に含まれる SNORF 3 6 受容体遺伝子と 7 0 % より高い核酸同一性を持つ、好ましくはプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) に含まれる SNORF 3 6 受容体遺伝子と 8 0 % より高い核酸同一性を持つ、より好ましくはプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 a - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 7) に含まれる SNORF 3 6 受容体遺伝子と 9 0 % より高い核酸同一性を持つ。種相同体を分離し、精製する方法の例は他に記載されている(例えば米国特許第 5 , 6 0 2 , 0 2 4 号、WO 9 4 / 1 4 9 5 7 号、WO 9 7 / 2 6 8 5 3 号、WO 9 8 / 1 5 5 7 0 号)。

【 0 1 0 3 】

本発明は更に図 3 A - 3 C (配列番号 3) に示される核酸配列によりコード化される、又はプラスミド p c DNA 3 . 1 - h SNORF 3 6 b - f (ATCC 受託番号 2 0 3 9 7 6) にコード化される SNORF 3 6 受容体の種相同体をコード化している分離核酸も提供する。実施形態の一つでは、核酸はプラスミド p

cDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されたSNORF36受容体と実質同一のアミノ酸配列を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別実施形態では、核酸はプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されたSNORF36受容体と75%より高いアミノ酸同一性を持つ、好ましくはプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されたSNORF36受容体と85%より高いアミノ酸同一性を持つ、最も好ましくはプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されたSNORF36受容体と95%より高いアミノ酸同一性を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別の実施形態では、哺乳類SNORF36受容体相同体はプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と70%より高い核酸同一性を持つ、好ましくはプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と80%より高い核酸同一性を持つ、より好ましくはプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と90%より高い核酸同一性を持つ。

【0104】

本発明はまた図5(配列番号5)に示される核酸配列によりコード化される、又はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)にコード化されるSNORF36受容体の種相同体をコード化している分離核酸も提供する。実施形態の一つでは、核酸はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)によりコード化されたSNORF36受容体と実質同一のアミノ酸配列を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別実施形態では、核酸はプラスミドpEXJ.T3T7-rSNORF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)によりコード化されたSNORF36受容体と75%より高いアミ

ノ酸同一性を持つ、好ましくはプラスミド pEXJ . T3T7 - rSNORF36p (ATCC特許寄託番号PTA - 534) によりコード化されたSNORF36受容体と85%より高いアミノ酸同一性を持つ、最も好ましくはプラスミド pEXJ . T3T7 - rSNORF36p (ATCC特許寄託番号PTA - 534) によりコード化されたSNORF36受容体と95%より高いアミノ酸同一性を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別の実施形態では、哺乳類SNORF36受容体相同体はプラスミド pEXJ . T3T7 - rSNORF36p (ATCC特許寄託番号PTA - 534) に含まれるSNORF36受容体遺伝子と70%より高い核酸同一性を持つ、好ましくはプラスミド pEXJ . T3T7 - rSNORF36p (ATCC特許寄託番号PTA - 534) に含まれるSNORF36受容体遺伝子と80%より高い核酸同一性を持つ、より好ましくはプラスミド pEXJ . T3T7 - rSNORF36p (ATCC特許寄託番号PTA - 534) に含まれるSNORF36受容体遺伝子と90%より高い核酸同一性を持つ。

【0105】

本発明はまた図9A - 9C (配列番号7) に示される核酸配列によりコード化される、又はプラスミド pEXJ . T7 - rSNORF36 - f (ATCC特許寄託番号PTA - 1216) にコード化されるSNORF36受容体の種相同体をコード化している分離核酸も提供する。実施形態の一つでは、核酸はプラスミド pEXJ . T7 - rSNORF36 - f (ATCC特許寄託番号PTA - 1216) によりコード化されたSNORF36受容体と実質同一のアミノ酸配列を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別実施形態では、核酸はプラスミド pEXJ . T7 - rSNORF36 - f (ATCC特許寄託番号PTA - 1216) によりコード化されたSNORF36受容体と75%より高いアミノ酸同一性を持つ、好ましくはプラスミド pEXJ . T7 - rSNORF36 - f (ATCC特許寄託番号PTA - 1216) によりコード化されたSNORF36受容体と85%より高いアミノ酸同一性を持つ、最も好ましくはプラスミド pEXJ . T7 - rSNORF36 - f (ATCC特許寄託番号PTA - 1216) によりコード化されたSNORF36受容体と95%より高いアミ

ノ酸同一性を持つ哺乳類SNORF36受容体相同体をコード化している。別の実施形態では、哺乳類SNORF36受容体相同体はプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と70%より高い核酸同一性を持つ、好ましくはプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と80%より高い核酸同一性を持つ、より好ましくはプラスミドpEXJ.T7-rSNORF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)に含まれるSNORF36受容体遺伝子と90%より高い核酸同一性を持つ。

【0106】

本発明は、第3細胞内ドメインにアミノ酸欠失、置換又は付加を有することで哺乳類SNORF36受容体とは異なっている修飾型哺乳類SNORF36受容体をコード化する分離核酸を提供する。

【0107】

本発明は哺乳類SNORF36受容体をコード化する分離核酸を提供する。実施形態の一つでは、核酸はDNAである。別実施形態では、DNAはcDNAである。別実施形態では、DNAはゲノムDNAである。別実施形態では、核酸はRNAである。

【0108】

別の実施形態では哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36受容体である。別実施形態では、ヒトSNORF36受容体はpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)によりコード化されているものに同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、ヒトSNORF36受容体は図2A-2B(配列番号2)に示されるアミノ酸配列に同一のアミノ酸配列を有する。

【0109】

別の実施形態では哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、ヒトSNORF36b受容体はpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されて

いるものに同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、ヒトSNORF36b受容体は図4A-4C(配列番号4)に示されるアミノ酸配列に同一のアミノ酸配列を有する。

【0110】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。別実施形態では、ラットSNORF36受容体はpEXJ.T7-rSONRF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)によりコード化されているものに同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、ラットSNORF36受容体は図10A-10C(配列番号8)に示されるアミノ酸配列に同一のアミノ酸配列を有する。

【0111】

本発明は精製哺乳類SNORF36受容体タンパク質を提供する。実施形態の一つではSNORF36受容体タンパク質はヒトSNORF36a受容体タンパク質である。別実施形態ではSNORF受容体タンパク質はヒトSNORF36b受容体タンパク質である。更に別の実施形態では、SNORF36受容体タンパク質はラットSNORF36受容体タンパク質である。

【0112】

本発明は、本発明の核酸を備えるベクターを提供する。本発明は更に、細胞内核酸を発現せしめるために受容体をコード化している核酸に作動可能に連結された細胞内核酸の発現に必要な制御要素を備える、足棒内発現に適合したベクターにあって、前記細胞が細菌、両生類、酵母、昆虫又は哺乳類細胞であるベクターを提供する。実施形態の一つでは、ベクターはバキュロウイルスである。別実施形態では、ベクターはプラスミドである。

【0113】

本発明はpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)と命名されたプラスミドを提供する。本発明はまたpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)と命名されたプラスミドを提供する。本発明はpEXJ.T3T7-rSONRF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)と命名されたプラスミドを提供する。本発明は

pEXJ.T7-rSONRF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)と命名されたプラスミドを提供する。

【0114】

本発明は更に修飾型非翻訳配列を含むベクター又はプラスミドも提供し、それらは所望宿主細胞での発現、又は結合アッセイあるいは機能的アッセイでの使用に有益である。例えば様々な長さの非翻訳配列を持つベクター又はプラスミドは使用する宿主細胞に依存して各種量のポリペプチドを発現するだろう。ある実施形態では、ベクター又はプラスミドはポリペプチドのコーディング配列及び宿主細胞内での発現に必要な制御要素を備える。

【0115】

本発明は、本発明のベクターを含む細胞を提供する。実施形態の一つでは、細胞は非哺乳類細胞である。実施形態の一つでは、非哺乳類細胞はアフリカツメガエル(Xenopus)卵細胞又はアフリカツメガエルメラニン細胞である。別実施形態では、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞はCOS-7細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、NIH-3T3細胞、LM(tk-)細胞、マウスY1細胞、又はCHO細胞である。別実施形態では、細胞は昆虫細胞である。別実施形態では、昆虫細胞はSf9細胞、Sf21細胞又はトリコプルシアni5B-4細胞である。

【0116】

本発明は本発明による細胞より分離された膜標本を提供する。

【0117】

更に、本発明は哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成するプローブである少なくとも15ヌクレオチドを備える核酸プローブにあって、前記プローブがプラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)プラスミドpEXJ.T3T7-rSONRF36p(ATCC特許寄託番号PTA-534)またはプラスミドpEXJ.T7-rSONRF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)をコード化する核酸の2本鎖の1本内に存在する特異的配列に相

補的である配列を有するプローブを提供する。

【0118】

本発明は更に哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成するプローブである少なくとも15ヌクレオチドを備える核酸プローブにあって、前記プローブが(a)図1A-1Cに示す核酸配列(配列番号1)又は(b)その逆向き相補体内に存在する特異的配列に相補的である配列を有するものであるプローブを提供する。本発明は更に哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成するプローブである少なくとも15ヌクレオチドを備える核酸プローブにあって、前記プローブが(a)図3A-3Cに示す核酸配列(配列番号3)又は(b)その逆向き相補体内に存在する特異的配列に相補的である配列を有するものであるプローブを提供する。本発明はまた哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成するプローブである少なくとも15ヌクレオチドを備える核酸プローブにあって、前記プローブが(a)図5に示す核酸配列(配列番号5)又は(b)その逆向き相補体内に存在する特異的配列に相補的である配列を有するものであるプローブも提供する。本発明はまた哺乳類SNORF36受容体をコード化する核酸と特異的にハイブリッド形成するプローブである少なくとも15ヌクレオチドを備える核酸プローブにあって、前記プローブが(a)図9A-9Cに示す核酸配列(配列番号7)又は(b)その逆向き相補体内に存在する特異的配列に相補的である配列を有するものであるプローブを提供する。実施形態の一つでは核酸はDNAである。別実施形態では、核酸はRNAである。

【0119】

ここで用いる句「特異的にハイブリッド形成する」とは、それ自体に相補的な核酸配列を認識し、そして相補的塩基対間の水素結合を通し二重螺旋断片を形成する核酸分子の能力を意味する。

【0120】

本発明の核酸は他の種由来の相同的核酸を得るため、及びサンプル注の相補的配列を有する核酸の存在を検出するためのプローブとして利用できるだろう。

【0121】

核酸はまたトランスフェクションされた細胞内にそれらがコード化している受容体を発現させるのにも使用されるだろう。

【0122】

更なる修飾を持たない天然に発生したSNORF36、または適当な点突然変異、欠失等を持つSNORF36によりコード化された構成的に活性な受容体を利用することで、内因性リガンドに関する事前の知識なしに拮抗物質をスクリーニングすること、及び受容体SNORF36の役割を基にするこれら拮抗物質の*in vivo*使用が可能となる。

【0123】

核酸の使用は更に、存在しうる受容体の多様性、及びSNORF36が要員である受容体のファミリー内に存在する複数のサブタイプの解明を可能にする。

【0124】

最終的に、本受容体は慢性及び急性炎症、関節炎、自己免疫疾患、移植拒絶、移植体対宿主病、細菌、真菌、原虫及びウイルス感染症、敗血症、AIDS、疼痛、（不安、抑鬱、精神分裂症、痴呆、精神遅滞、記憶喪失、癲癇、運動神経障害、運動問題を含む）精神病及び神経障害、呼吸器障害、喘息、（肥満、大食い、糖尿病、食欲不振を含む）摂食/体重障害、悪心、高血圧、低血圧、血管及び心臓血管障害、虚血、卒中、癌、潰瘍、尿貯留、性/生殖障害、日周期リズム障害、腎臓障害、骨粗鬆症を含む骨傷害、良性前立腺肥大、胃腸管傷害、鼻充血、疥癬の様な皮膚疾患、アレルギー、パーキンソン病、アルツハイマー病、急性心不全、狭心症、うわごと、ハンチントン病又はジル・ド・ラ・トゥーレット症候群の様な運動異常症等の様な各種病理生理学的状態を治療するための薬剤、及びこれら状態に関する診断アッセイの設計に有益な道具として有用であると予想される。

【0125】

本受容体はさらに化学予防に適した薬剤の設計に関する有益な道具としても有用であろう。

【0126】

細胞、例えば哺乳類細胞に核酸をトランスフェクションし、その細胞表面に受

容体が発現される方法は当分野で良く知られている（例えばその開示はその全体が参照され本明細書に取り込まれている米国特許第5,053,337号、第5,155,218号、第5,360,735号、第5,472,866号、第5,476,782号、第5,516,653号、第5,545,549号、第5,556,753号、第5,595,880号、第5,602,024号、第5,639,652号、第5,652,113号、第5,661,024号、第5,766,879号、第5,786,155号、及び第5,786,157号を参照）。

【0127】

この様なトランスフェクションされた細胞はまたSNORF36受容体に結合する化合物ならびにこれら細胞内での機能的反応の活性化を活性化する又は阻害する、従ってインビボで同様に作用する化合物を得ることを目的とした化合物の試験及び化合物ライブラリーのスクリーニングにも使用できるだろう（例えばその開示はその全体が参照され本明細書に取り込まれている米国特許第5,053,337号、第5,155,218号、第5,360,735号、第5,472,866号、第5,476,782号、第5,516,653号、第5,545,549号、第5,556,753号、第5,595,880号、第5,602,024号、第5,639,652号、第5,652,113号、第5,661,024号、第5,766,879号、第5,786,155号、及び第5,786,157号を参照）。

【0128】

本発明はさらに哺乳類受容体をコード化している核酸によりコード化される哺乳類SNORF36受容体に結合できる抗体を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0129】

本発明はまた哺乳類SNORF36受容体への抗体の結合を競合的に阻害することができる作用物質も提供する。実施形態の一つでは、抗体はモノクローナル

抗体または抗血清である。

【0130】

SNORF36受容体を目的としたアンチセンスオリゴヌクレオチド、抗体、核酸プローブ及びトランスジェニック動物を調整する、および使用方法は当分野公知である。(例えばその開示はその全体が参照され本明細書に取り込まれている米国特許第5,053,337号、第5,155,218号、第5,360,735号、第5,472,866号、第5,476,782号、第5,516,653号、第5,545,549号、第5,556,753号、第5,595,880号、第5,602,024号、第5,639,652号、第5,652,113号、第5,661,024号、第5,766,879号、第5,786,155号、及び第5,786,157号を参照)。

【0131】

本発明は、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているRNAに特異的にハイブリッド形成でき、そのようなRNAの翻訳を阻止できる配列を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。本発明は更に哺乳類SNORF36受容体をコード化しているゲノムDNAに特異的にハイブリッド形成でき、そのようなゲノムDNAの転写を阻止できる配列を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。実施形態の一つでは、オリゴヌクレオチドは化学的に修飾されたヌクレオチド又はヌクレオチド類似体を備える。

【0132】

本発明はさらに本発明による核酸によりコード化される哺乳類SNORF36受容体に結合できる抗体を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0133】

本発明はまた哺乳類SNORF36受容体への本発明による抗体の結合を競合的に阻害することができる作用物質も提供する。実施形態の一つでは、抗体はモノクローナル抗体または抗血清である。

【0134】

本発明はさらに(a)細胞膜を通過でき哺乳類SNORF36受容体の発現を減少させるのに有効である本発明によるオリゴヌクレオチドのある量、及び(b)細胞膜を通過できる製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。

【0135】

実施形態の一つでは、オリゴヌクレオチドはmRNAを不活性化する物質に結合されている。別実施形態では、mRNAを不活性化する物質はリボザイムである。別実施形態では、製薬上許容され得る担体は、その構造に結合した後細胞により取り込まれることができる細胞上の哺乳類SNORF35受容体に結合する構造を含む。別実施形態では、製薬上許容され得る担体は、選択されたタイプの細胞に特異的である哺乳類SNORF36受容体に結合できる。

【0136】

本発明はまたヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体へのリガンドの結合を阻止することに有効な本発明による抗体のある量、及び製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物も提供する。

【0137】

本発明はさらに本発明による哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを発現しているトランスジェニック型非ヒト哺乳類を提供する。本発明は未変性の哺乳類SNORF36受容体のノックアウトする相同的組み換えを含むトランスジェニック型非ヒト哺乳類を提供する。本発明は更に、そのゲノムが本発明による哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAに相補的なアンチセンスDNAを備えるものであり、前記DNAが哺乳類SNORF36受容体をコード化するmRNAと相補性でありそれにハイブリッド形成するアンチセンスmRNAに転写される様にそのゲノム内に配置され、その結果それらmRNAの転写及びそれら受容体の発現を低下せしめるものであるトランスジェニック型非ヒト哺乳類を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAは更に誘導可能なプロモーターを含む。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体をコード化しているDNAは更に組織特異的制御要素を

備える。別実施形態では、トランスジェニック型非ヒト哺乳類はマウスである。

【0138】

本発明は哺乳類SNORF36受容体と特異的に結合する化合物を特定するための工程にあって、該工程が哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを含み且つ哺乳類SNORF36受容体をそれら細胞表面上に発現している細胞にあって、前記細胞が哺乳類SNORF36受容体を正常に発現していない細胞である細胞と前記化合物とを結合に関し好適である条件下に接触せしめること、及び哺乳類SNORF36受容体に対する化合物の特異的結合を検出することを備える工程を提供する。本発明は更に哺乳類SNORF36受容体の特異的に結合する化合物を特定するための工程にあって、哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAを含みそれら細胞表面上にそれを発現している細胞にあって哺乳類SNORF36受容体を正常には発現していない細胞からの膜標本を化合物と結合に好適条件下に接触せしめることを、及び哺乳類SNORF36受容体への化合物の特異的結合を検出することを備える工程を提供する。

【0139】

実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36a-f(ATCC受託番号203977)によりコード化されているヒトSNORF36a受容体と実質的に同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は、プラスミドpcDNA3.1-hSNORF36b-f(ATCC受託番号203976)によりコード化されているヒトSNORF36b受容体と実質的に同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は図2A-2B(配列番号2)または図4A-4C(配列番号4)に示されるものと実質的に同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は図2A-2B(配列番号2)または図4A-4C(配列番号4)に示されるものと同一のアミノ酸配列を有する。

【0140】

実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受

容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は、プラスミドpEXJ.T7-rSONRF36-f(ATCC特許寄託番号PTA-1216)によりコード化されているラットSNORF36受容体と実質的に同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は図10A-10C(配列番号8)に示されるものと実質的に同一のアミノ酸配列を有する。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体は図10A-10C(配列番号8)に示されるものと同一のアミノ酸配列を有する。

【0141】

実施形態の一つでは、化合物は哺乳類SNORF36受容体への結合が従来知られていない。実施形態の一つでは、細胞は昆虫細胞である。実施形態の一つでは、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞は非神経起源である。

【0142】

別実施形態では、非神経細胞はCOS-7細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、CHO細胞、NIH-3T3細胞、マウスY1細胞、又はLM(tk-)細胞である。別実施形態では、化合物は哺乳類SNORF36受容体への結合が従来知られていない化合物である。本発明は、本発明による前記工程により特定された化合物を提供する。

【0143】

本発明はさらにまた、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を特定するための競合的結合を含む工程にあって、その細胞表面に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞にあって、正常には哺乳類SNORF36受容体を発現しない細胞に、受容体へのこれら化合物の好適結合条件下に化合物及び受容体に結合することが既知である第二化合物の両方を接触せしめること、及び第二化合物のみを接触せしめることを別々におこなう、及び哺乳類SNORF36受容体への化合物の特異的結合を検出すること、試験化合物存在時に哺乳類SNORF36受容体への第二化合物の結合低下がこれら化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を示す工程を提供する。

【0144】

本発明は哺乳類SNORF36受容体の特異的に結合する化合物を特定するた

めの競合的結合を含む工程にあって、その細胞表面に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞にあって、正常には哺乳類SNORF36受容体を発現しない細胞より得た膜標本に、受容体へのこれら化合物の好適結合条件下に化合物及び受容体に結合することが既知である第二化合物の両方を接触せしめること、及び第二化合物のみを接触せしめることを別々におこなう、及び哺乳類SNORF36受容体への化合物の特異的結合を検出すること、試験化合物存在時に哺乳類SNORF36受容体への第二化合物の結合低下がこれら化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を示す工程を提供する。

【0145】

本発明の実施形態では、第二化合物はレチノイン酸誘導体である。レチノイン酸誘導体の例にはオール-transレチノイン酸(ATRA)、9-シス-レチナール、13-シス-レチナール、及びオール-trans-レチナールが含まれるが、これに限定されない。

【0146】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。別実施形態では、細胞は昆虫細胞である。別実施形態では、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞は非神経起源である。別実施形態では非神経細胞はCOS-7細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、CHO細胞、NIH-3T3細胞、マウスY1細胞、又はLM(tk-)細胞である。別実施形態では、化合物は哺乳類SNORF36受容体への結合は従来知られていない。発明は本発明による前記工程により特定された化合物を提供する。

【0147】

本発明は哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を特定することを目的とした哺乳類SNORF36受容体への結合が知られていない複数の化合物をスクリーニングする方法にあって、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAをトランスフェクションされた、又は哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞に哺乳類SNORF36受容体への特異的結合が既知

である化合物を接触せしめること、(b)工程(a)の細胞に哺乳類SNORF36受容体への特異結合が多数の化合物を、哺乳類SNORF36受容体への結合が既知である化合物の結合を許す条件の下に接触せしめること、(c)複数の化合物非存在時の結合に比べ、複数化合物存在時の哺乳類SNORF36受容体への結合既知化合物の結合が低下するかを決定すること、及び低下した場合(d)複数の化合物内に含まれる各化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別々にすること、を備える、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を特定する方法を提供する。

【0148】

本発明は哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を特定することを目的とした哺乳類SNORF36受容体への結合が知られていない複数の化合物をスクリーニングする方法にあって、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAをトランスフェクションされた、又は哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞より得た膜標本に、哺乳類SNORF36受容体への特異結合が多数の化合物を、哺乳類SNORF36受容体への結合が既知である化合物の結合を許す条件の下に接触せしめること、(b)複数の化合物非存在時の化合物結合に比べ、複数の化合物存在時の哺乳類SNORF36受容体への結合既知化合物の結合が低下するかを決定すること、及び低下した場合(c)複数の化合物内に含まれる各化合物の哺乳類SNORF36受容体への結合を別々にすること、を備える、哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合する化合物を特定する方法を提供する。

【0149】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。別実施形態では、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞は非神経起源である。別実施形態では非神経細胞はCOS-7細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、LM(tk-)細胞CHO細胞、マウスY1細胞、又はNIH-3T3細胞である。

【0150】

本発明は哺乳類SNORF36受容体をコード化するmRNAの存在を検出することで哺乳類SNORF36受容体の発現を検出する方法にあって、細胞から全mRNAを得ること、及び得られたmRNAを本発明による核酸プローブとハイブリッド形成条件下に接触せしめること、プローブにハイブリダイズしたmRNAの存在を検出すること、及びそれにより細胞による哺乳類SNORF36受容体の発現を検出することを備える方法を提供する。

【0151】

本発明はさらに細胞表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出する方法にあって、受容体への抗体の結合を許す条件下に、細胞に本発明による抗体を接触せしめること、細胞に結合した抗体の存在を検出すること、及びそれにより細胞表面上の哺乳類SNORF36受容体の存在を検出することを備える方法を提供する。

【0152】

本発明はより更に哺乳類SNORF36受容体の活性レベルを変化させる生理学的効果を決定する方法にあって、哺乳類SNORF36受容体発現を制御する誘導型プロモーターの使用によりその哺乳類SNORF36受容体活性のレベルが変化する、本発明によるトランスジェニック型非ヒト哺乳類を作製することを備える方法を提供する。

【0153】

本発明は更に哺乳類SNORF36受容体の活性レベルを変化させる生理学的効果を決定する方法にあって、それぞれが異なる量の哺乳類SNORF36受容体を発現している本発明によるトランスジェニック型非ヒト哺乳類のパネルを作製することを備える方法も提供する。

【0154】

更に本発明は、異常を軽減できる拮抗物質を特定する方法にあって、前記異常が哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させることで軽減されるものであり、本発明によるトランスジェニック型非ヒト哺乳類に化合物を投与すること、及び化合物が哺乳類SNORF36受容体の過剰活性の結果としてトランスジェニック型非ヒト哺乳類により提示される生理学的及び/又は行動学的異常を軽減す

るかを決定することを備える、これら異常の軽減により化合物が拮抗物質であることを特定する方法を提供する。ある実施形態では哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。発明はまた本発明による上記方法により特定された拮抗物質も提供する。本発明はさらに組成物、例えば本発明による拮抗物質及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。本発明は哺乳類SNORF36受容体の活性を低下せしめることで異常が軽減される被験者の異常を治療する方法にあって、被験者に本発明による薬学的組成物の有効量を投与し、それにより異常を治療することを備える方法を提供する。

【0155】

更に、本発明は異常が哺乳類SNORF36受容体の活性を上昇させることで軽減される被験者の異常を軽減できるアゴニストを特定する方法にあって、本発明によるトランスジェニック型非ヒト哺乳類に化合物を投与すること、及び化合物がトランスジェニック型非ヒト哺乳類により提示される生理学的及び/又は行動学的異常を軽減するかを決定することを備える、これら異常の軽減により化合物がアゴニストであることを特定する方法も提供する。ある実施形態では哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。発明はまた本発明による上記方法により特定されたアゴニストも提供する。本発明はさらに組成物、例えば本発明によるアゴニスト及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。

【0156】

本発明は哺乳類SNORF36受容体の活性を増加せしめることで異常が軽減される被験者の異常を治療する方法にあって、被験者に本発明による薬学的組成物の有効量を投与し、それにより異常を治療することを備える方法を提供する。

【0157】

より具体的には、本発明は以下を含む特異的哺乳類対立遺伝子の活性に関連する病気に関する素因を診断する方法を提供する：(a)障害を有する被験者のD

NAを得ること、(b) DNAを制限酵素のパネルを使い制限酵素消化すること、(c) 得られたDNA断片を分子量分析用ゲル上に電気泳動的に分離すること、(d) 得られたゲルを哺乳類SNORF36受容体をコード化している核酸分子の配列内に含まれる特異的配列と特異的にハイブリッド形成でき、且つ検出可能なマーカーにより標識された核酸プローブと接触せしめること、(e) 哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAにハイブリダイズした標識されたバンドを検出し、病気にかかった被験者のDNAに特異的な特有バンドパターンを作製すること、(f) 病気にまだ罹っていない被験者より診断を目的に得たDNAについての工程(a) - (e)を棄消すこと、及び(g) 工程(e)から得た障害を有する被験者のDNAに特異的な特有バンドパターンとまだ障害を有さない被験者に関する工程(f)からのバンドパターンを比較し、パターンが同一であるか又は異なっているかを決定し、それによりパターンが同一の場合に病気に関する素因を診断する。

【0158】

実施形態の一つでは、病気は診断対象の特異的哺乳類対立遺伝子の活性に関連する病気である。

【0159】

本発明はまた本発明による精製哺乳類SNORF36受容体を調整する方法にあって、(a) 哺乳類SNORF36受容体を発現する細胞を培養すること、(b) 細胞から哺乳類SNORF36受容体を回収すること、及び(c) 回収された哺乳類SNORF36受容体を精製することを備える方法も提供する。

【0160】

本発明は更に本発明による精製哺乳類SNORF36受容体を調整する方法にあって、(a) 哺乳類SNORF36受容体をコード化するク酸を好適発現ベクターに挿入すること、(b) 得られたベクターを好適宿主細胞に導入すること、(c) 得られた宿主細胞を哺乳類SNORF36産生を可能せしめる好適条件下に置くこと、(d) 産生された哺乳類SNORF36受容体を回収すること、及び(e) 回収された哺乳類SNORF36受容体を単離及び/又は精製することを備える方法を提供する。

【0161】

更に本発明は化合物が哺乳類SNORF36受容体アゴニストであるかを決定することによって、哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAがトランスフェクションされこれを発現している細胞を化合物と、哺乳類SNORF36受容体の活性化を可能せしめる条件下に接触せしめること、及び哺乳類SNORF36受容体活性の増加を検出することを備え、それにより化合物が哺乳類SNORF36受容体アゴニストであるかを決定することを提供する。

【0162】

更に本発明は化合物が哺乳類SNORF36受容体拮抗物質であるかを決定することによって、哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAがトランスフェクションされこれを発現している細胞を化合物と、哺乳類SNORF36受容体の活性化を可能せしめる条件下に接触せしめること、及び哺乳類SNORF36受容体活性の低下を検出することを備え、それにより化合物が哺乳類SNORF36受容体拮抗物質であるかを決定することを提供する。

【0163】

ある実施形態では哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0164】

本発明はさらにまた組成物、例えば薬学的組成物によって、哺乳類SNORF36受容体の活性増加に有効な量の本発明の工程により決定された哺乳類SNORF36受容体拮抗物質、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体アゴニストは従来知られていない。

【0165】

また本発明は組成物、例えば薬学的組成物によって、哺乳類SNORF36受容体の活性増加に有効な量の本発明の工程により決定された哺乳類SNORF36受容体拮抗物質、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体拮抗物質は

従来知られていない。

【0166】

本発明は更に化合物が哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合するか、そして活性化するかを決定することによって、第二メッセンジャー反応を生じ、その細胞表面に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞において、正常には哺乳類SNORF36受容体を発現していない細胞に化合物を哺乳類SNORF36受容体の活性化に好適条件下に接触せしめること、及び化合物存在下及び非存在下にて第二メッセンジャー反応を測定することを備え、化合物存在下での第二メッセンジャーの変化、例えば増加することが化合物が哺乳類SNORF36受容体を活性化することを示す工程を提供する。

【0167】

実施形態の一つでは、第二メッセンジャー反応は塩素イオンチャンネル活性化を含み、第二メッセンジャー反応の変化は塩素イオン流のレベル増加である。別の実施形態では、第二メッセンジャー反応は細胞内カルシウムレベルの変化を含み、第二メッセンジャー反応の変化は細胞内カルシウム測定値の上昇である。別実施形態では、第二メッセンジャー反応はイノシトールリン酸の放出を含み、第二メッセンジャーの変化はイノシトールリン酸のレベル上昇である。別実施形態では、第二メッセンジャー反応はアラキドン酸の放出を含み、第二メッセンジャーの変化はアラキドン酸レベルの上昇である。更に別の実施形態では、第二メッセンジャー反応はGTP Sリガンド結合を備え、第二メッセンジャーの変化はGTP Sリガンド結合の増加である。別実施形態では、第二メッセンジャー反応はMAPキナーゼの活性化を含み、第二メッセンジャーの変化はMAPキナーゼ活性化の上昇である。更に別の実施形態では、第二メッセンジャー反応はcAMP蓄積を含み、第二メッセンジャーの変化はcAMP蓄積の減少である。

【0168】

本発明はさらに化合物が哺乳類SNORF36受容体に特異的に結合し、その活性を阻害するかを決定することによって、第二メッセンジャー反応を生じその細胞表面上に哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞であって、正常には哺乳類SNORF36受容体を発現しない細胞に、哺乳類SNORF36受容

体の活性化に好適な条件の下、化合物及び哺乳類S N O R F 3 6受容体を活性化することが既知である第二化合物の両方を接触せしめること、及び第二化合物のみを接触せしめること、及び第二化合物及び化合物の両方が存在する条件下での第二メッセンジャー反応を測定することを備え、第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物及び第二化合物の両方が存在する場合の第二メッセンジャー反応の変化、例えば増加がより小さいことが化合物が哺乳類S N O R F 3 6受容体の活性化を阻害することを示す工程を提供する。

【0169】

本発明の実施形態では、第二化合物はレチノイン酸誘導体である。レチノイン酸誘導体の例にはオール-transレチノイン酸(ATRA)、9-シス-レチナール、13-シス-レチナール、及びオール-trans-レチナールが含まれるがこれに限定されない。

【0170】

実施形態の一つでは、第二メッセンジャー反応は塩素イオンチャネル活性化を含み、第二メッセンジャー反応の変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物及び第二化合物の両方が存在する場合の塩素イオン流のレベル増加がより小さいことである。別の実施形態では、第二メッセンジャー反応は細胞内カルシウムレベルの変化を含み、第二メッセンジャー反応の変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第二化合物の両方が存在する場合の細胞内カルシウム測定値の上昇が小さいことである。別実施形態では、第二メッセンジャー反応はイノシトールリン酸の放出を含み、第二メッセンジャーの変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第二化合物の両方が存在する場合のイノシトールリン酸のレベル上昇がより小さいことである。

【0171】

別の実施形態では、第二メッセンジャー反応はMAPキナーゼの活性化を含み、第二メッセンジャーの変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第二化合物の両方が存在する場合のMAPキナーゼ活性化の上昇がより小さいである。更に別の実施形態では、第二メッセンジャー反応はcAMPレベルの変化を含み、第二メッセンジャーの変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第

二化合物の両方が存在する場合のcAMPレベルの変化がより小さいことである。別実施形態では、第二メッセンジャー反応はアラキドン酸の放出を含み、第二メッセンジャーの変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第二化合物の両方が存在する場合のアラキドン酸レベルの上昇である。更に別の実施形態では、第二メッセンジャー反応はGTP-Sリガンド結合を備え、第二メッセンジャーの変化は第二化合物のみ存在する場合に比べ化合物と第二化合物の両方が存在する場合のGTP-Sリガンド結合の増加がより小さいことである。

【0172】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。別実施形態では、細胞は昆虫細胞である。別実施形態では、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞は非神経起源である。別実施形態では非神経細胞はCOS-7細胞、CHO細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、NIH-3T3細胞、又はLM(tk-)細胞である。別実施形態では、化合物は哺乳類SNORF36受容体への結合は従来知られていない。発明は本発明による前記工程により特定された化合物を提供する。

【0173】

更に本発明は本発明による工程により決定された化合物、及び組成物、例えば薬学的組成物にあって、本発明の工程により哺乳類SNORF36受容体の活性増加に有効であることが決定された哺乳類SNORF36受容体アゴニストのある量、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体とを備える組成物を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体アゴニストは従来知られていない。

【0174】

更に本発明は本発明による工程により決定された化合物、及び組成物、例えば薬学的組成物にあって、本発明の工程により哺乳類SNORF36受容体の活性低下に有効であることが決定された哺乳類SNORF36受容体拮抗物質のある量、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体とを備える組成物を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体拮抗物質は従来知られていない。

。

【0175】

本発明はより具体的には、哺乳類SNORF36受容体を活性化する化合物を特定することを目的とした哺乳類SNORF36受容体を活性化することが知られていない複数の化合物をスクリーニングする方法にあつて、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAをトランスフェクションされ哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞に、哺乳類SNORF36受容体への特異結合が多数の化合物を、哺乳類SNORF36受容体への結合が既知である化合物の結合を許す条件の下に接触せしめること、(b)1つ以上の化合物が存在する場合に哺乳類SNORF36受容体の活性が増加するか決定すること、及び増加した場合に(c)複数の化合物内に含まれる化合物による哺乳類SNORF36受容体の活性化を別々にすること、を備える、哺乳類SNORF36受容体を活性化する化合物を特定する方法を提供する。

【0176】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0177】

本発明は哺乳類SNORF36受容体の活性を阻害する化合物を特定することを目的とした哺乳類SNORF36受容体の活性を阻害することが知られていない複数の化合物をスクリーニングする方法にあつて、(a)哺乳類SNORF36受容体をコード化するDNAをトランスフェクションされ哺乳類SNORF36受容体を発現している細胞に、既知哺乳類SNORF36受容体アゴニスト存在下に複数の化合物を、哺乳類SNORF36受容体の活性化を許す条件下に接触せしめること、(b)1つ以上の化合物非存在時の哺乳類SNORF36受容体活性化の程度または大きさに比べ、1つ以上の化合物存在時の哺乳類SNORF36受容体の活性化の強さ又は大きさが低下するかを決定すること、及び低下した場合(c)複数の化合物内に含まれる各化合物が哺乳類SNORF36受容体の活性を阻害するか別々にすること、を備える、哺乳類SNORF36受容体

の活性化を阻害する化合物を特定する方法を提供する。

【0178】

実施形態の一つでは哺乳類SNORF36受容体はヒトSNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では、哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。別実施形態では、細胞は哺乳類細胞である。別実施形態では、細胞は非神経起源である。別実施形態では非神経細胞はCOS-7細胞、293ヒト胚性腎臓細胞、LM(tk-)細胞又はNIH-3T3細胞である。

【0179】

本発明はまた組成物、例えば薬学的組成物にあって、哺乳類SNORF36受容体活性増加に有効な量の本発明による方法にて特定された化合物、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物も提供する。

【0180】

本発明は更に組成物、例えば薬学的組成物にあって、哺乳類SNORF36受容体活性低下に有効な量の本発明による方法にて特定された化合物、及び担体、例えば製薬上許容され得る担体を備える薬学的組成物も提供する。

【0181】

更に、本発明は被験者の異常を治療する方法にあって、前記異常が哺乳類SNORF36受容体の活性を増加させることで軽減されるものであり、該被験者に該異常の治療に有効な量の哺乳類SNORF36受容体アゴニストである化合物を投与することを備える方法を提供する。実施形態の一つでは異常はステロイドホルモン疾患、エピネフィリン放出障害、胃腸管病、心臓血管病、電解質平衡障害、高血圧、糖尿病、呼吸障害、喘息、生殖機能障害、免疫疾患、内分泌疾患、筋肉骨格障害、神経内分泌疾患、認識障害、記憶障害、体感覚及び神経伝達障害、代謝疾患、運動強調障害、感覚統合障害、運動統合障害、ドーパミン作動性機能障害、食欲不振または肥満の様な食欲障害、感覚伝達障害、薬物依存症、臭覚異常、自律神経系障害、疼痛、神経精神障害、情緒障害、偏頭痛、日周期障害、視覚障害、排尿障害、血液凝固関連疾患、発達障害、または虚血性再灌流傷害関連病の制御である。

【0182】

本発明の更なる実施形態では、異常は妊娠異常、不眠症の様な睡眠障害、時差ボケ関連状態、メラトニン放出関連障害、及び脈絡膜機能関連障害である。

【0183】

本発明は更に被験者の異常を治療する方法にあって、前記異常が哺乳類SNORF36受容体の活性を低下させることで軽減されるものであり、該被験者に該異常の治療に有効な量の哺乳類SNORF36受容体拮抗物質である化合物を投与することを備える方法を提供する。実施形態の一つでは異常はステロイドホルモン疾患、エピネフィリン放出障害、胃腸管病、心臓血管病、電解質平衡障害、高血圧、糖尿病、呼吸障害、喘息、生殖機能障害、免疫疾患、内分泌疾患、筋肉骨格障害、神経内分泌疾患、認識障害、記憶障害、体感覚及び神経伝達障害、代謝疾患、運動強調障害、感覚統合障害、運動統合障害、ドーパミン作動性機能障害、食欲不振または肥満の様な食欲障害、感覚伝達障害、薬物依存症、臭覚異常、自律神経系障害、疼痛、神経精神障害、情緒障害、偏頭痛、日周期障害、視覚障害、排尿障害、血液凝固関連疾患、発達障害、または虚血性再灌流傷害関連病の制御である。

【0184】

本発明の更なる実施形態では、異常は妊娠異常、不眠症の様な睡眠障害、時差ボケ関連状態、メラトニン放出関連障害、及び脈絡膜機能関連障害である。

【0185】

本発明はまた哺乳類SNORF36受容体に特異的結合する物質の組成物を作製する工程にあって、本発明による工程を使用し化合物を特定すること、次に化合物又はその新規構造及び機能類似体又は相同体を合成することを含む工程も提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はヒト哺乳類SNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0186】

本発明は更に組成物、例えば薬学的組成物を調整する工程にあって、担体、例えば製薬上許容され得る担体、及び本発明による工程により特定された化合物又

はその新規構造的及び機能的類似体又は相同体の医薬品として有効な量とを混合することを含む薬学的組成物を調整する工程を提供する。実施形態の一つでは、哺乳類SNORF36受容体はヒト哺乳類SNORF36a受容体又はヒトSNORF36b受容体である。別実施形態では哺乳類SNORF36受容体はラットSNORF36受容体である。

【0187】

即ち、標的とする受容体サブタイプの遺伝子がクローン化されそれがレシピエント細胞内に配置されると、細胞はその表面に標的受容体サブタイプを発現する。この細胞は標的ヒト受容体サブタイプの単一集団を発現しており、その後継代され細胞株が確立される。この細胞株は薬物発見システムを構成しており、2種類のアッセイ：結合アッセイ及び機能的アッセイに使用される。結合アッセイでは、特定薬物発見プログラムの標的である受容体サブタイプと副作用に関係するであろうその他の受容体サブタイプの両方に関する化合物の親和性が測定される。これらの測定により化合物の効力、及び他の受容体サブタイプに比べた場合の化合物の持つ標的受容体サブタイプに対する選択性の程度を推測することができる。結合アッセイのデータはまた最適治療効果を目的として、化学者に適宜1つ以上の関連サブタイプに近い、又は遠い化合物を設計させることができる。機能的アッセイでは、化合物に対する受容体サブタイプの反応の性質が決定される。機能的アッセイからのデータは、化合物が受容体サブタイプの活性を阻害するか又は促進するかを示し、即ち薬理学者による彼らが目的とするヒト受容体サブタイプに関する化合物の迅速評価を可能にし、化学者に既存薬物に比べより効果的であり、そして重度の副作用が殆ど無いか又は実質的に少ない薬物を合理的に設計させることができる。

【0188】

受容体サブタイプ選択的化合物を設計し合成する方法は良く知られており、伝統的医化学及びより新規技術であるコンビナトリアル化学を含むが、共にコンピューター支援分子モデリングにより支援される。これらの方法により、化学者及び薬理学者はかれらの標的受容体サブタイプの構造と受容体サブタイプへの結合及び/又は活性化を活性化する又は阻害することが決定された化合物に関する知

識を利用し、これら受容体サブタイプに対し活性を有するであろう構造体を設計し、そして合成する。

【0189】

コンビナトリアル化学は化学的構築ブロックの各種組合せを利用しそれらを組み立てることによる各種新規化合物の自動化合成を含む。コンビナトリアル化学の利用は化合物作製の工程を大きく加速する。得られた化合物のアレイはライブラリーと呼ばれ、問題のレセプターに十分なレベルの活性を示す化合物（「リード化合物」）のスクリーニングに使用される。コンビナトリアル化学を利用することで、問題の標的受容体を強く目指した化合物の集まりである「フォーカスト」ライブラリーを合成することができる。

【0190】

一度リード化合物が合成されると、コンビナトリアル化学または伝統的な医化学もしくはその他を使用して各種相同体及び類似体が調整され、化学構造と生物学的又は機能的活性間の関連性の理解が促進される。これら研究は構造活性連関を規定し、次にこれは効力、選択性及び薬物動態特性が向上した薬物の設計に利用される。コンビナトリアル化学はまたリードの最適化を目的とした各種構造体の迅速作製にも利用される。伝統的医化学は一度に一つの化合物の合成を含むが、この方法は更なる改善、及び自動化技術により得ることができない化合物の作製にも使用される。一度これら薬物が規定されると、医薬品及び化学産業にて利用されている標準的な製造方法論を用い生産はスケールアップされる。

【0191】

実験の詳細

材料および方法

ヒトSNORF36受容体の団件の同定

ヒト胎盤ゲノムファージライブラリー（2.75百万組換え体、ストラタジーン、カリフォルニア州ラホーラ（Stratagene, La Jolla, CA））を、ヒトのセロトニン5-HT_{1D}受容体の膜貫通（TM）ドメインIII、VおよびVIに対して設計された³²P標識オリゴヌクレオチドプローブRW76、RW77、RW96、RW97、RW98およびRW99を用いてスクリ

ーニングした。重複オリゴヌクレオチドプローブを、DNAポリメラーゼI（クレンー断片）および[γ - 32 P] ATP/dCTPで標識した。

【0192】

プレートのニトロセルロースフィルター上張りのハイブリッド形成を、低緊縮で行った：25%ホルムアミドを含む溶液中40℃、5×SSC（1×SSCは、0.15M塩化ナトリウム、0.015Mクエン酸ナトリウム）、1×デンハード溶液（0.02%ポリビニルピロリジドン、0.02%フィコール、0.02%ウシ血清アルブミン）、7mMトリスおよび25μg/ml音波処理サーモン精子DNA。フィルターを、40℃で、0.1%ドデシル硫酸ナトリウムを含む0.1×SSCで洗浄し、そして増感板の存在下でコダックXARフィルムに-70℃で露出させた。

【0193】

プレート10上の陽性シグナルを、二次プレート採取で単離した。この陽性のものから単離されたDNAのHindIII/XbaI消化物から得られた2.3kb断片を、サザンブロット分析によって同定し、pUC18（ジブコ・BRL、メリーランド州ゲーサースバーグ（Gibco BRL, Gaithersburg, MD））にサブクローニングし、そしてそれを使用して、大腸菌（イー・コリ）XL1ブルー細胞（ストラタジーン、カリフォルニア州ラホーラ）を形質転換させた。1つの形質転換体から得たプラスミドDNA、K39を、シーケナーゼ（US・バイオケミカル・コープ、オハイオ州クレブランド（US Biochemical Co., Cleveland, OH））を使用して、変性二本鎖プラスミドテンプレート上のサンガーのジデオキシヌクレオチド鎖終結法（Sangerら、1977年）を使用して配列決定した。K39の配列の分析は、アドレナリン作動性受容体に最高の相同性を示す新規GPCRのTmのIIIおよびTVを示した。

【0194】

全長のヒトSNORF36受容体の単離

全長のSNORF36受容体を単離するために、ヒト海馬cDNAライブラリーのプールを、K39特異的プライマーであるT604、およびベクタープライ

マーであるT94またはK39特異的プライマーであるT603のいずれかを使用してポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってスクリーニングした。以下のプロトコルを用いて、TaqDNAポリメラーゼ(ロッシュ・モレキュラー・バイオケミカルズ、インディアナ州インディアナポリス(Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN))を用いてPCRを行った: 94 で5分間維持; 94 で2分間、72 で4分間の40サイクル; 72 で10分間維持; サンプルがゲル上で移動されるまで4 で維持。K39特異的オリゴヌクレオチドプローブであるT605を用いて、2つの陽性プールから単離されたコロニーの高緊縮ハイブリッド形成、および陽性コロニーの連続PCR試験で、TL252と称される単独の陽性クローンの単離を生じた。TL252の配列の分析は、それが、TMI-TMVIIを含有するが、NH₂およびCOOH末端は見当たらないことを示した。

【0195】

SNORF36のCOOH末端を単離するために、cDNAエンド(RACE)の3'高速増幅を、クローンテック・マラソンのcDNA増幅キット(クローンテック、カリフォルニア州パロアルト(Clontech, Palo Alto, CA))を用いて行った。供給者のプロトコルを用いて、マラソンのアダプターを、ヒト海馬ポリA+RNAから製造されたds cDNAに連結された。最初のPCRを、供給者のアダプター・プライマー1、およびTL252のTMV1から得られる順行プライマーであるA48を用いて行った。2μlのこの最初のPCR反応液を、アダプター・プライマー2、およびTMV1から得られる順行プライマーであるA49を用いて再増幅させた。PCRを、以下の条件下でアドバンテージ・クレンタック・ポリメラーゼ(クローンテック、カリフォルニア州パロアルト)を用いて行った: 94 で30秒; 94 で30秒間、68 で4分間の30サイクル; および生成物が、分析の準備ができるまで4 で維持した。1.5kb断片を、QIAQUICKゲル抽出キット(キアゲン、カリフォルニア州チャッツワース(QIAGEN, Chatsworth, CA))を用いてアガロースTAEゲルから単離させ、そしてTAクローニングベクター(インビトロゲン、カリフォルニア州サンディエゴ(Invitrogen, S

an Diego, CA)) にサブクローニングさせた。1つの形質転換体 AB 25 を、ABI ビッグ・ダイのサイクル配列決定プロトコルおよび ABI 377 シーケンサー (ABI、カリフォルニア州フォスター・シティー (Foster City, CA)) を用いて配列決定した。配列を、ウィスコンシン・パッケージ (GCG、ジェネティック・コンピューター・グループ、ウィスコンシン州マディソン (Madison, WI)) を用いて分析した。AB 25 の配列の分析は、COOH 末端および終止コドンを、TMV II からおよそ 350 pb 下に示した。

【0196】

全長 SNORF 36 cDNA を見つけ出すために、ヒト海馬 cDNA ライブラリーのプールを、エクスパンド・ロング・テンプレート PCR システム (ベリンガー・マンハイム、インディアナ州インディアナポリス) を用いて、TL 252 特異的プライマー BB 788 および BB 789 を用いた PCR によってスクリーニングした。PCR 増幅についての条件は、以下のとおりであった：94 で 5 分間維持；94 で 30 秒間、68 で 2 分間の 40 サイクル；68 で 5 分間維持；生成物が、アガロースゲル電気泳動の準備ができるまで 4 で維持。このスクリーンは、3つの陽性プールを生じた。[γ - 32 P]-ATP 標識 SNORF 36 特異的プローブ (BB 791) を用いて、これらのプールの 2つから単離したコロニーの連続高緊縮ハイブリッド形成は、2つの陽性の個別コロニー 260.13.1 および 243.33.3 の同定を生じた。これらのコロニーの配列決定は、それらが、一致し、そして 3' 末端で全長であることを示した。しかし、これらのクローンが、TMI の上流にある程度の配列を含む一方で、それらは、開始のメチオニンを含まなかった。さらに、これらのクローンは両方とも、TL 252 に存在しない第一の細胞内ループ中の 11 アミノ酸挿入物含有した。

【0197】

NH₂ 末端配列を同定するために、5' RACE を、マラソン cDNA 増幅キットのプロトコルにしたがって、マラソン・レディー・ヒト海馬 cDNA (クローンテック、カリフォルニア州パロアルト) で行った。最初の PCR を、供給者

のアダプター・プライマー1、および260.13.1の第二の細胞内ループから得られる逆行プライマーであるBB798を用いて行った。1 μ lのこの最初のPCR反応液を、アダプター・プライマー2、およびTMIから得られる逆行プライマーであるBB797を用いて再増幅させた。PCRを、以下の条件下でアドバンテージ・クレンタック・ポリメラーゼ(クローンテック、カリフォルニア州パロアルト)を用いて行った: 94 で30秒; 94 で30秒間および72 で3分間の5サイクル; 94 で30秒間および70 で3分間の5サイクル; 94 で30秒間および68 で3分間の23サイクル(最初のPCR)または20サイクル(入れ子状態のPCR); 68 で7分間維持; および生成物が、分析の準備ができるまで4 で維持。500bp断片を、QUIAQUICKゲル抽出キット(キアゲン、カリフォルニア州チャッツワース)を用いて1%アガロースTAEゲルから単離し、そして上に記述されるとおり、ABI377シーケンサーおよびビッグダイの終止サイクル配列決定を用いて配列決定した。この配列の分析は、NH₂末端が、TMIから上流に、2メチオニン71および52アミノ酸を含むことを示した。

【0198】

SNOFR36aについての全長cDNAクローン(11アミノ酸挿入物なし)を、以下のとおりに構築させた。エクスパンド・ロング・テンプレートPCRシステム(ロッシュ・モレキュラー・バイオケミカルズ、インディアナ州インディアナポリス)、およびBamHI制限部位を組込む5'UTから得られる順行プライマーBB812、および第三の細胞外ループから得られる順行プライマーであるBB813を用いて、cDNAの5'末端を、海馬および下垂体cDNAから増幅させた。PCR増幅についての条件は、以下のとおりであった: 94 で5分間維持; 94 で30秒間の37サイクル; 68 で2.5分間; 68 で7分間維持; 生成物が、アガロースゲル電気泳動の準備ができるまで4 で維持。9個の独立のPCR反応から得た1050bpを、1%アガロースゲルから切断し、キアクイックゲル抽出キット(キアゲン、カリフォルニア州チャッツワース)を用いて精製し、TAクローニングのベクター(インビトロゲン、カリフォルニア州サンディエゴ)にサブクローニングさせ、そしてABIビッグダイ

のサイクル配列決定プロトコルおよびABI 377シーケンサー（ABI、カリフォルニア州フォスター・シティー）を用いて配列決定した。これらの配列の分析は、対立遺伝子変動の存在を示した。ヌクレオチド39（図1A-Cおよび3A-C）は、アデニンまたはグアニンのいずれかである。これらのPCR産物の1つF9は、単独の保存的ヌクレオチド変化を除いては共通配列に適合する。その後、F9から得た1021bp BamHI / BglI断片を、ヒト海馬ライブラリープール260.13.1から得た1180pb BglII / EcoRI断片と一緒に、BamHI / EcoRI切断pcDNA3.1（インビトロゲン、カリフォルニア州サンディエゴ）に連結させ、そしてこの構築物を、BO108と命名した。PCR断片によって導入された単独の点突然変異を、BB926およびBB927および製造業者の指示を用いて、クイックチェンジ部位特異的突然変異誘発キット（ストラタジーン、カリフォルニア州ラホーラ）で修正した。生じたSNOR36a構築物BO109を、上に記述されるとおり両方の鎖で配列決定した。このクローンを、pcDNA3.1-hSNORF36a-fと改めて命名した。SNORF36bについての全長のクローン（11アミノ酸挿入物を有する）を、以下のとおりに構築した。BO108を、TMI中の順行プライマーであるBB796、およびHindIII部位をも組込む終止コドンでの逆行プライマーであるBB936で増幅することにより、以下のプロトコルを用いて、1260bp断片を得た：94 で5分間維持；94 で30秒間の32サイクル；68 で2.5分間；68 で7分間維持；生成物が、アガロースゲル電気泳動の準備ができるまで4 で維持。このPCR産物から得られる1130bp NspI / HindIII断片、および上に記述されるBB812 - BB813 PCRから得られるPCR産物である、K81から得られる390bp BamHI / NspI断片を、BamHI / HindIII切断pcDNA3.1（インビトロゲン、カリフォルニア州サンディエゴ）に連結させた。生じるSNORF36b構築物BO110を、上に記述されるとおり、両方の鎖で配列決定した。このクローンを、pcDNA3.1-hSNORF36b-fと改めて命名した。

【0199】

SNORF 36のラット相同の断片の単離

ラット相同性SNORF 36の断片を得るために、100 ngのラットゲノムDNA (クローンテック、カリフォルニア州パロアルト) を、ヒトSNORF 36のTMI II Iに対応する順行PCRプライマーであるBB 788、およびヒトSNORF 36のTMVに対応する順行プライマーであるBB 1097で増幅した。以下の条件下で、エクスパンド・ロング・テンプレートPCRシステム (ロッシュ・モレキュラー・バイオケミカルズ) を用いて、PCRを行った: 94 で30秒; 45 または50 で45秒、それぞれ94 で5分間および68 で7分の前 - および後 - インキュベーションしながら、40サイクルの間68 で1.5分間。7つの独立のPCR反応から得た800 bpのバンドを、TAEゲルから単離し、キアクイックゲル抽出キット (キアゲン、カリフォルニア州チャッツワース) を用いて精製し、そして上に記述のとおり両方の鎖について配列決定した。この配列の分析は、第二の細胞外ループにイントロンを示した。7つの配列のコンセンサスを使用して、順行および逆行PCRプライマー (BamHI制限部位をも組込むBB 1182、およびHindIII部位をも組込むBB 1183) を設計し、そしてそれを使用して、以下の条件を用いてラット脊髄cDNAから得られるバンドを増幅させた: 94 で30秒、64 で30秒、それぞれ94 で5分間および68 で7分の前 - および後 - インキュベーションしながら、37サイクルの間68 で1.5分間。3つの独立のPCR反応から得た産物を、BamHIおよびHindIIIで消化させ、そして250 bpの断片を、ゲル精製し、そして発現ベクターpEX J . T3T7に連結させた。各PCR反応から得た1つの形質転換体を、上のとおり配列決定した。2つの産物のヌクレオチド配列は、コンセンサスと一致し、そして一方KO56を、pEX J - rSNORF 36 - pと改めて命名した。

【0200】

全長ラットSNORF 36受容体の単離

全長ラットSNORF 36 cDNAを見つけ出すために、ラット脊髄cDNAライブラリーのプールを、ラットSNORF 36断片のTMI II Iから得た順行プライマーであるBB 1182、およびラットSNORF 36断片のTMVから

得た逆行プライマーであるBB1183を用いてPCRによってスクリーニングした。エクスパンド・ロング・テンプレートPCRシステム(ロッシュ・モレキュラー・バイオケミカルズ、インディアナ州インディアナポリス)を用いて、PCRを行った: 94 で5分間維持; 94 で30秒間、68 °で5分間の40サイクル; 68 で7分間維持; アガロースゲル電気泳動の準備ができるまで4で維持。このスクリーンは、2つの陽性プールを示した。[³²P]-ATP標識SNORF36特異的プローブ(BB1298)を用いて、これらのプールの内の1つから得た単離コロニーの連続高緊縮ハイブリッド形成は、陽性の個別のコロニーN323.16.1Fの同定を生じ、KO109と改めて命名された。KO109の配列決定は、それが、1422ヌクレオチドの開放読取り枠、148ヌクレオチドの5'UTおよびおよそ1000ヌクレオチドの3'UTを含む2.6kbの挿入物を含むことを示した。このクローンは、pEXJ.T7-rSNORF36 fと改めて命名された。

【0201】

SNORF36受容体cDNAの他の種の相同体の単離

他の種から得たSNORF36受容体cDNAをコードする核酸配列を、下に記述されるもののような標準分子生物学技術およびアプローチ法を用いて単離されうる:

アプローチ法番号1: 目的の種から発生されるゲノムライブラリー(例えば、コスミド、ファージ、P1、BAC、YAC)を、ゲノムクローンを単離するために、図1A~1C、3A~3C、5または9A~9Cで示されるヒトまたはラットSNORF36受容体の断片に対応する³²P標識オリゴヌクレオチドプローブでスクリーニングしうる。全長配列は、このゲノムクローンを配列決定することによって得られうる。1つまたはそれ以上のイントロンが、遺伝子に存在する場合、全長のイントロンなし遺伝子は、標準分子生物学技術を使用してcDNAから得ることができる。例えば、5'UTで設計された順行PCRプライマーおよび3'UTで設計された逆行PCRプライマーは、cDNAから全長のイントロンなし受容体を増幅するために使用されうる。標準分子生物学技術は、この遺伝子を哺乳類発現ベクターにサブクローニングするために使用することができ

るはずである。

【0202】

アプローチ法番号2：標準分子生物学技術は、図1A～1C、3A～3C、5または9A～9Cで示される配列の断片に対応する³²P標識オリゴヌクレオチドプローブを用いて、減退した緊縮下でのハイブリッド形成によって目的の種の市販のcDNAファージライブラリーをスクリーニングするために使用されうる。だれでも、ラムダライブラリーからブランク精製されたクローンを得て、そしてその後そのクローンを直接DNA配列決定にかけることによって全長SNORF36受容体を単離しうる。代わりに、標準分子生物学技術は、部分的種相同配列に対して設計されたプライマーを使用してライブラリープールのPCR増幅によりcDNAプラスミドライブラリーをスクリーニングするために使用され得た。全長クローンは、³²Pオリゴヌクレオチドプローブを用いた陽性プールのコロニー釣上げのササンハイブリッド形成によって単離されうる。

【0203】

アプローチ法番号3：3'および5'RACEは、SNORF36の別の配列を含むSNORF36を発現する目的の種から由来するcDNAからPCR産物を発生させるために利用されうる。その後、これらのRACE PCR産物を、別の配列を決定するために配列決定しうる。その後、この新たな配列は、5'UTで順行PCRプライマーを、そして3'UTで逆行プライマーを設計するために使用される。その後、これらのプライマーは、cDNAから全長SNORF36クローンを増幅するために使用される。

【0204】

他の種の例としては、それに限定されないが、マウス、イヌ、サル、ハムスターおよびモルモットが挙げられる。

【0205】

SNORF36の同定に使用されるプライマーおよびプローブ：

【0206】

【化1-1】

- RW76: 5' - CATCGCCCTCGACGTGCTGTGCTGCACCTCATCCATCT
TGCACCT -3' (SEQ ID NO: 9)
- RW77: 5' - CATGGACAGGTCGCGCTACCGCGTGTCCACGTTCTACC
TACTCCA -3' (SEQ ID NO: 10)
- RW96: 5' - GGCATCATCATGGGCACCTTCATCCTCTGCTGGCTGCC
CTTCTTC -3' (SEQ ID NO: 11)
- RW97: 5' - GCAGAAGGGCAGAACAAGAGCCACGATGAAGAAGGGCA
GCCAGCA -3' (SEQ ID NO: 12)
- RW98: 5' - TGGCTGTCATCGGACATCACTTGTTGCACTGCCTCCAT
CCTGCAC -3' (SEQ ID NO: 13)
- RW99: 5' - GTAGCGGTCCAGGGCGATGACACAGAGGTGCAGGATGG
AGGCAGT -3' (SEQ ID NO: 14)
- T604: 5' - CCAGCCGAAGAAGGGTGGCAGACTCCA -3' (SEQ ID NO:
15)
- T94: 5' - CTTCTAGGCCTGTACGGAAGTGTTA -3' (SEQ ID NO: 16)
- T603: 5' - GCACAGGCTGCGAGTTCTATTCCTT -3' (SEQ ID NO: 17)
- T605: 5' - CTGGTAATCACACACCCGCTGGCCACCTTTGGTGTGGC
GTCCAAG -3' (SEQ ID NO: 18)

【0207】

【化1-2】

- A48: 5'- AGATCATGCTGCTGGTCATCCTCC -3' (SEQ ID NO: 19)
A49: 5'- TCGTGCTCTCCTGGGCTCCCT -3' (SEQ ID NO: 20)
BB788: 5'- TCCTCCATGATCACCCCTGACGGC -3' (SEQ ID NO: 21)
BB789: 5'- TCTGGAGAGCCCGTCTGTCTCC -3' (SEQ ID NO: 22)
BB791: 5'- CGGCCGTGCGTGCTACACCATGCTTCTCTGCTGCTTC
GTGTTCTTCC -3' (SEQ ID NO: 23)
BB798: 5'- TTGGACGCCACACCAAAGGTGGCC -3' (SEQ ID NO: 24)
BB797: 5'- GGTATAGATGACCGTCAGGTTGCC -3' (SEQ ID NO: 25)
BB812: 5'-CGAACAGGATCCTCTCTGTGGGCTCGAGCAAGGACC -3'
(SEQ ID NO: 26)
BB813: 5'- ACGTGTGCGTACCCAGCAAAGGCC -3' (SEQ ID NO: 27)
BB926: 5'- GTCCACAGCACCTGGGACTTGGGCTGC -3' (SEQ ID NO:
28)
BB927: 5'- GCAGCCCAAGTCCCAGGTGCTGTGGGAC -3' (SEQ ID NO:
29)
BB796: 5'- GGCAACCTGACGGTCATCTATAACC -3' (SEQ ID NO: 30)
BB936: 5'- CAGCATAAGCTTCCAGTGGGCGTCCTACATCCTGG -3'
(SEQ ID NO: 31)
BB1097: 5'- CAGTAGATGATGATAAGCAGAGG -3' (SEQ ID NO: 32)
BB1182: 5'- CGAACAGGATCCCATAGCCATGGACCGCTATCTGG -3'
(SEQ ID NO: 33)
BB1183: 5'- CCTAGCAAGCTTGAGGAAGAAGACAAAGCAGAAGAGC -3'
(SEQ ID NO: 34)
BB1298: 5'-CGGACGGCACTAGTCCTGCTAGGTGTCTGGCTCTATGCCCTGG
CCTGG -3' (SEQ ID NO: 35)

宿主細胞

広範な多様の宿主が、異種発現タンパク質を研究するために使用できる。これらの細胞としては、それに限定されないが、COS-7、CHO、LM(tk-)、HEK293などのような哺乳類セルライン；Sf9、Sf21、トリコプルシア(Trichoplusia、ケモノハジラミ科の一属)のni5B-4のような昆虫セルライン；アフリカツメガエル卵母細胞のような両生類細胞；組合せ酵母株；組合せ細菌細胞株；およびその他が挙げられる。これらの細胞型の各々についての培養条件は、特異的であり、そして当業界に慣れた者に知られて

いる。ヒトSNORF36受容体を発現するために使用される細胞は、COS-7およびヒト胚腭臓(HEK)293細胞であった。

【0208】

COS-7細胞を、37℃、5%CO₂で、補足物(10%仔ウシ血清、4mMグルタミン、100単位/mlペニシリン/100μg/mlストレプトマイシンを伴ったダルベッコの修飾イーグル培地)を伴ったDMEM中の150mmプレートで育成する。COS-7細胞の保存プレートを、トリプシン処理し、そして3~4日毎に1:6に分けた。

【0209】

HEK293細胞を、37℃、5%CO₂で、補足物(10%仔ウシ血清、4mMグルタミン、100単位/mlペニシリン/100μg/mlストレプトマイシン)を伴ったDMEM中の150mmプレートで育成する。293細胞の保存プレートを、トリプシン処理し、そして3~4日毎に1:6に分けた。

【0210】

一過性発現

研究されるべきDNAコード化タンパク質は、リン酸カルシウム仲介、DEAE-デキストラン仲介、リポソーム仲介、ウイルス仲介、電気穿刺仲介およびマイクロインジェクション送出手のような数種の方法によって、多様な哺乳類、昆虫、両生類および他のセルラインで一過性で発現されうる。これらの方法の各々は、実質的に使用されるべきDNA、セルライン、およびアッセイの型によって、組合せた実験パラメーターの最適化を必要とする可能性がある。

【0211】

Cos-7およびHEK293細胞に使用されるときにDEAE-デキストラン方法のための典型的プロトコルは、以下のとおり記述される。トランスフェクションのために使用されるべき細胞は、トランスフェクションの24時間前に分断されて、フラスコに供給され、そしてそれは、トランスフェクションの時間に70~80%密集である。簡潔には、8μgの受容体DNA足す8μgの必要とされる任意の別のDNA(例えば、Gタンパク質発現ベクター、レポーター構築物、抗生物質耐性マーカー、モックベクター、など)を、9mlの完全DME

M足すDEAE-デキストラン混合物(PBS中10mg/ml)に添加する。T225フラスコ(予備密集)に入れられた細胞を、PBSで一回洗浄し、そしてDNA混合物を、各フラスコに添加する。細胞を、30分間、37℃で、5%CO₂でインキュベートさせる。インキュベーションに続いて、80µMクロロキンと共に36mlの完全DMEMを、各フラスコに添加し、そしてさらに3時間インキュベートさせる。その後、その培地を吸引し、そして正確に2分間、10%DMSOを含有する24mlの完全培地で、そしてその後吸引する。その後、細胞を、2回PBSで洗浄し、そして30mlの完全DMEMを各フラスコに添加する。細胞を、一夜インキュベートさせる。次の日に、トリプシン処理によって細胞を収穫し、そして96穴プレートに再度種付けする。

【0212】

安定な発現

異種のDNAを、宿主細胞に安定に組み込み、それにより細胞に外来タンパク質を絶え間なく発現させることができる。DNAを細胞に送出手法は、一過性発現について上に記述されるものに類似するが、しかし標的宿主細胞における薬剤耐性を付与する補助的な遺伝子の同時トランスフェクションを必要とする。続いて起る薬剤耐性は、DNAを摂取した細胞を選択および維持するために利用される。耐性遺伝子の組合せは、制限されないが、ネオマイシン、カナマイシン、およびヒグロマイシンを含めて利用できる。本発明の受容体を考慮する研究の目的について、異種の受容体タンパク質の安定な発現は、典型的には、必然的に制限されないが、CHO、HEK293、LM(tk-)などを含めた哺乳類で行われる。さらに、受容体についての核酸配列を自然に担持および発現する生来のセルラインは、受容体相補性を操作する必要なしに使用される。

【0213】

機能性アッセイ

本発明の受容体DNAを発現する細胞は、機能性アッセイを使用して、上記受容体に対するリガンドについてスクリーンするために使用される。いったん、リガンドが同定されると、同じアッセイは、多様な治療目的のために使用される受容体のアゴニストまたはアンタゴニストを同定するために使用される。G

PCRの過剰発現が、細胞内のシグナル発生経路の保存的活性化を生じうるとは、当業者によく知られている。同じように、上に記述されるとおり任意のセルライン中のSNORF36a受容体の過剰発現は、下に記述される機能応答の活性化を生じ得て、そしてここに記述されるアッセイのいずれかは、SNORF36受容体のアゴニスト、部分的アゴニスト、逆アゴニストおよびアンタゴニストリガンドについてスクリーニングするために使用できる。

【0214】

広範なスペクトルのアッセイは、SNORF36受容体リガンドの存在についてスクリーニングするために使用されうる。これらのアッセイは、総リン酸イノシトール蓄積、cAMPレベル、細胞内のカルシウム代謝、およびカリウムの流れのような伝統的測定から；高い処理量、いっそう一般的で、そしていっそう感受性のあるものであるように修飾または適合された以外はこれらの同じ第二メッセンジャーを測定するシステムまで；代謝的变化、分化、細胞分裂/増殖のような受容体活性化から生じるいっそう一般的な細胞の事象を報告する細胞基本のアッセイまでに渡る。数種のこのようなアッセイの説明が続く。

【0215】

環状AMP (cAMP) アッセイ

環状AMP (cAMP) 形成の受容体介在刺激または阻害は、受容体を発現する細胞で分析されうる。細胞を、96穴プレートまたは他の容器に入れ、そして20分間、37℃で、5%CO₂で、プロテアーゼ阻害剤カクテル(例えば、典型的阻害剤カクテルは、2µg/mlアプロチニン、0.5mg/mlリユーペチン、および10µg/mlホスホラミドンを含む)と共に、またはなしに、5mMセオフィリンのようなホスホジエステラーゼ阻害剤で補足されたHEPES緩衝生理食塩水(NaCl(150mM)、CaCl₂(1mM)、KCl(5mM)、グルコース(10mM))のような緩衝液中で予備インキュベートする。試験化合物を、10mMホルスコリンと共に、またはなしに添加し、そしてさらに10分間、37℃でインキュベートする。その後、培地を、吸引し、そして100mM HClを添加すること、または他の方法によって反応を停止させる。そのプレートを、15分間、4℃で保存し、そして停止溶液中のcAMP

P含量を、ラジオイムノアッセイによって測定する。放射性活性は、データ減退ソフトウェアを具備したガンマ線カウンターを使用して定量されうる。特異的修飾は、受容体についてのアッセイを最適化するため、またはcAMPの検出方法を変えるために行われうる。

【0216】

アラキドン酸放出アッセイ

受容体を発現する細胞を、96穴プレートまたは他の容器に種付けし、そして補足物を伴う培地で、3日間育成する。³Hアラキドン酸(活性比=0.75 μCi/ml)を、100 μLアリコート量として各ウエルに送出させ、そしてサンプルを、18時間、37 °Cで、5%CO₂でインキュベートさせる。標識細胞を、培地で三回洗浄する。その後、ウエルを、BamHI位置で充填し、そしてアッセイを、総容積250 μLで、試験化合物または緩衝液の添加で開始させた。細胞を、30分間、37 °Cで、5%CO₂でインキュベートさせる。上清を、マイクロタイタープレートに移し、そして真空炉で75 °Cで、乾固するまで蒸散させる。その後、サンプルを、25 μL滅菌水に溶解または再懸濁させる。蛍光物(300 μL)を、各ウエルに添加し、そしてサンプルを、トリラックスプレートリーダーで³Hについて計数する。データは、グラフPADプリズムパッケージ(カリフォルニア州サンディエゴ)で利用できる非線状減縮および統計的技術を使用して分析する。

【0217】

細胞内のカルシウム可動性アッセイ

細胞内遊離カルシウム濃度は、蛍光指標染料フラ-2/AM(Bushら、1991年)を使用したマイクロスペクトロフルオリメトリーによって測定されうる。受容体を発現する細胞を、ガラス製カバースリップ挿入物を含む35mm培養皿に種付けし、そして一夜粘着させる。その後、細胞を、HBSで洗浄し、そして20から40分間、100 μLのフラ-2/AMにかける。HBSで洗浄して、フラ-2/AM溶液を除去した後、細胞を、10から20分間、HBSで平衡にする。その後、細胞を、レイツ・フルオバートFS顕微鏡の40×対物下で可視化し、そして蛍光排出は、340 nMと380 mMの間で変化する励起波長

で、510 nMで測定される。生の蛍光データは、標準カルシウム濃度曲線およびソフトウェアの分析技術を使用して、カルシウム濃度に変換される。

【0218】

別の方法で、細胞内カルシウムの測定は、96穴（またはそれより高い）フォーマットで、選択的カルシウム感受性指標を用いて行うこともでき、これらの好ましい例は、エクオリン、フルオ - 3、フルオ - 4、フルオ - 5、カルシウムグリーン - 1、オレゴングリーン、および488 BAPTAである。アゴニストリガンドを用いた受容体の活性化の後、細胞内カルシウム濃度の変化によって励起される排出は、ルミノメーター、蛍光画像装置によって測定される；この好ましい例は、蛍光画像装置プレートリーダー（IFLIPR）である。

【0219】

目的の受容体を発現する細胞を、ウエル当たり30,000~80,000個の細胞密度で、透明で、平底の黒色壁の96穴プレート（コスター（Costar））に入れ、そして5%CO₂、37℃で一夜インキュベートさせる。成長用培地を、吸引し、そして100 μlの染料負荷培地を、各ウエルに添加する。負荷培地は、ハンクのBSS（フェノール赤）（ジブコGibco）、20 mM HEPES（シグマ（Sigma））、0.1%BSA（シグマ）、染料/プルロン酸混合物（例えば、1 mMフロ - 3、AM（モレキュラー・プローブ（Molecular Probes））、10%プルロン酸（モレキュラー・プローブ）；（使用直前に混合される）、および2.5 mMプロベネシド（シグマ）（新たに製造される））を含有する。細胞を、5%CO₂、37℃で約1時間インキュベートさせる。

【0220】

染料負荷インキュベーションの間、化合物プレートを製造する。化合物を、洗浄緩衝液（フェノール赤なしのハンクのBSS）、20 mM HEPES、2.5 mMプロベネシドで、3×最終濃度に希釈し、そして透明のv底プレート（ナック（Nunc））にアリコート量取る。インキュベーションに続いて、細胞を洗浄して、過剰の染料を除去する。デンレイのプレート洗浄装置を、細胞を4回穏やかに洗浄し、そして各ウエル中に100 μl最終容積の洗浄緩衝液を残すた

めに使用する。細胞プレートを、中央のトレイに入れ、そして化合物プレートを、FLIPRの右のトレイに入れる。FLIPRソフトウェアは、実験のために設置され、その実験を行い、そしてデータを収集する。その後、エクセルのスプレッドシートプログラムを用いてデータを分析する。

【0221】

アンタゴニストリガンドを、アゴニストリガンドによって励起されるシグナルの阻害によって同定する。

【0222】

細胞内遊離カルシウム (Ca^{2+}) 濃度は、蛍光化合物造装置のプレートリーダー (FLIPR™) によって測定されうる。

【0223】

先に記述されるとおり、適切なDNAでトランスフェクションされた細胞を、ウエル当たり80,000~150,000個の細胞密度で、透明の平底黒色ウエル96穴プレート(コスター)に入れ、そして5%CO₂、37で24時間インキュベートさせる。必要なときはいつでも、細胞を、37に維持された水浴に入れ、そして画像処理の90から120分前に、およそ30cmの位置に設置されたランプ光(50W)に露出させた。成長用培地を、吸引し、そしてフルオ-3染料を含有する100µlの負荷培地を、画像処理の60分前に、各ウエルに添加した。負荷培地は、ハンクのBSS(フェノール赤を伴わない)(ジブコ)、20mM HEPES(シグマ)、0.1%BSA(シグマ)、染料/プルロン酸混合物(例えば、1mMフロ-3、AM(モレキュラー・プローブ)および10%プルロン酸(モレキュラー・プローブ;使用直前に混合される)、および2.5mMプロベネシド(シグマ)(新たに製造される)を含有する。細胞を、5%CO₂、37で約1時間インキュベートさせる。

【0224】

染料負荷培地を用いた細胞のインキュベーションの前または間に、試験化合物プレートを作成する。レチノイドは、化学的に不安定であり、そして迅速な光異性化を受けることができる(Huら、1994年)ので、光学写真の暗室光の下で、適切な濃度の試験化合物を秤量、溶解および製造するのに注意が払われた。

試験化合物を、洗浄緩衝液（ハングのBSS（フェノール赤を伴わない）、20 mM HEPES（シグマ）、2.5 mMプロベネシド）で、4×最終濃度に希釈し、そして透明なv底プレート（ナック）にアリコート量取った。それらを細胞に添加するまで、試験化合物を、光から保護した。染料負荷培地でのインキュベーションに続いて、細胞を、洗浄して、過剰染料を除去した。デンレイのプレート洗浄装置を、使用して、細胞を4回穏やかに洗浄し、そして各ウェルに100 μ l最終容積の洗浄緩衝液を残した。細胞プレートを、中央のトレイに入れ、そして試験化合物プレートを、FLIPRの右のトレイに入れた。FLIPRソフトウェアは、実験のために設置され、その実験を行い、そしてデータを収集した。アゴニスト実験については、FLIPRでのサンプル採取速度は、最初の1分間は1秒毎であり、そして次の2分間は2秒毎であった。この例では、試験化合物を、最初の10秒間、基本線を記録した後に添加した。アンタゴニスト実験については、FLIPRでのサンプル採取速度は、最初の1分間は1秒毎であり、次の5分間は6秒毎であり、その次の1分間は1秒毎で、続いて次の2分は2秒毎であった。アンタゴニスト活性を評価するために、試験化合物を、記録を開始した10秒後に細胞に添加し、そしてアゴニストを、記録の310秒に添加した。基本線の減法および負の対照訂正を、痕跡で行った。その後、エクセルのスプレッドシートプログラムを用いて収集データを分析した。

【0225】

リン酸イノシトールアッセイ

リン酸イノシトール（IP）第二メッセンジャー経路のヒトSNORF36a受容体介在活性化を、IP産物の放射線測定法測定によって評価した。

【0226】

例えば、96穴マイクロプレートフォーマットアッセイで、細胞を、ウェル当たり70,000細胞の密度で載せ、そして24時間インキュベートさせた。その後、細胞を、0.5 μ Ci [3 H]ミオイノシトールを用いて、一夜37 $^{\circ}$ Cで、5%CO₂で標識する。アッセイの直前に、培地を除去し、そして10mM LiClを含む90 μ LのPBSに交換する。その後、プレートを、37 $^{\circ}$ Cで、5%CO₂で、15分間インキュベートする。インキュベーションに続いて、細

胞を、アゴニスト(10 µl / ウエル; 10 × 濃度)で、30分間、37 °C で誘発させる。誘発は、100 µLの50% v / vトリクロロ酢酸を添加することによって終了させ、続いて4 °C で、30分以上の間、インキュベーションを行う。イオン交換クロマトグラフィーによって、総IPを、溶解物から単離する。簡潔には、ウエルの溶解内容物を、ダウエックスAG1 - X8(200 ~ 400メッシュ、ホルメート形態)を含有するマルチスクリーンHVフィルタープレート(ミリポア)に移す。100 µlのダウエックスAG1 - X8懸濁液(50% v / v、水:樹脂)を各ウエルに添加して、フィルタープレートを作成する。フィルタープレートを、樹脂床を洗浄または溶出させるために真空マニホールドに載せる。各ウエルを、最初に、200 µlの5 mMミオイノシトールで2回洗浄する。総[³H]リン酸イノシトールを、75 µlの1.2 Mアンモニウムホルメート / 0.1 M蟻酸溶液で96穴プレートに溶出させる。200 µLのシンチレーションカクテルを、各ウエルに添加し、そして放射性活性を、液体シンチレーション計測によって測定する。

【0227】

細胞を、ウエル当たり70,000細胞の密度で入れ、そして24時間インキュベートさせる。その後、細胞を、37 °C で、5% CO₂で、0.5 µCi [³H]ミオイノシトールで標識した。アッセイ直前に、培地を除去し、そして10 mM LiClを含む180 µLのリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で置換した。その後、プレートを、20分間、37 °C で、5% CO₂でインキュベートした。インキュベーションに続いて、細胞を、37 °C で30分間、アゴニスト(20 µl / ウエル; 10 × 濃度)で誘発させ、そして細胞からおよそ30 cmの距離に置かれたランプ光(50 W)に同時に露出するかまたはしなかった。100 µLの5% v / vトリクロロ酢酸の添加し、続いて4 °C で、30分以上の間インキュベートすることによって、誘発を測定した。イオン変換クロマトグラフィーによって、溶解物から総IPを単離した。簡潔には、ウエルの溶解内容物を、ダウエックスAG1 - X8(200 ~ 400メッシュ、ホルメート形態)を含むマルチスクリーンHVフィルタープレート(ミリポア)に移した。100 µlのダウエックスAG1 - X8懸濁液(50% v / v、水:樹脂)を各ウエルに添加して

、フィルタープレートを作成した。フィルタープレートを、樹脂床を洗浄または溶出させるために真空マニホールドに載せた。各ウエルを、最初に、 $200\mu\text{l}$ の 5mM ミオイノシトールで2回洗浄する。総 $[^3\text{H}]$ リン酸イノシトールを、 $75\mu\text{l}$ の 1.2M アンモニウムホルメート/ 0.1M 蟻酸溶液で96穴プレートに溶出させる。 $200\mu\text{L}$ のシンチレーションカクテルを、各ウエルに添加し、そして放射性活性を、液体シンチレーション計測によって測定した。

【0228】

GTP S機能性アッセイ

受容体を発現する細胞から得られる膜を、プロテアーゼ阻害剤（例えば、 0.1% バシトラシン）と共に、またはなしに、アッセイ緩衝液（例えば、 50mM トリス、 100mM NaCl、 5mM MgCl₂、 $10\mu\text{M}$ GDP (pH 7.4)）に浮遊させる。膜を、20分間、氷上でインキュベートし、96穴ミリポアのマイクロタイターGF/Cフィルタープレートに移し、そしてGTP ³⁵S（例えば、 $250,000\text{cpm}$ /サンプル、比活性 $\sim 1000\text{Ci}/\text{mmol}$ ）足すまたは引く未標識GTP S（最終濃度 $=100\mu\text{M}$ ）と混合する。最終膜タンパク質濃度 $=90\mu\text{g}/\text{ml}$ 。サンプルを、30分間、室温で試験化合物の存在または不在でインキュベートし、その後ミリポアの真空マニホールドで濾過し、そして冷（4℃）アッセイ緩衝液で3回洗浄する。フィルタープレートに収集されたサンプルを、蛍光物で処理し、そしてトリラックス（ワラック（Wallac））液体シンチレーションカウンターで³⁵Sについて計測する。受容体膜標品が、適切に操作された異種の発現系、すなわち、受容体の高レベルの発現を生じ、および/または高い物質交代速度（GTPについてのGDPの交換について）を示すGタンパク質を発現する発現系から由来する場合、最適な結果が得られることが予想される。GTP Sアッセイは、当業者に十分に知られており、そしてTianら（1994年）またはLazarenkoおよびBirdsall（1993年）によって記述されるように、上に記述される方法での変動が使用されることが予想される。

【0229】

微小生理測定アッセイ

細胞の代謝が、広範な範囲の細胞の事象（複数のメッセンジャー経路の受容体活性化を含めた）に複雑に関与するので、細胞代謝の微小生理測定の使用は、受容体のシグナル発生経路の特異性にかかわらず、任意のオーファン受容体の活性化から生じる細胞の活性の一般的アッセイを、原則的に提供できる。

【0230】

一過性受容体発現についての一般指針、細胞標品および微小生理測定記録が、いずれかの場所に記述される（Salon、J. A. およびOwicki, J. A.、1996年）。典型的には、受容体を発現する細胞を収獲し、そして実験の24時間前に、完全培地中で微小生理測定計莢膜当たり 3×10^5 個細胞で種付けする。組合せられそして、疾病が定義された血清因子による非特異的代謝刺激を最小にする読取りの16時間前に、培地を、血清不含の培地に交換する。実験の日に、細胞莢膜を、微小生理測定計に移し、そして記録媒体（0.1%脂肪酸不含BSAを含む低緩衝液RPMI 1640、ビカルボネートなし、血清なし（モレキュラー・デバイシズ・コーポレーション、カリフォルニア州サニーバレー）（Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, CA）で平衡にさせ、その間に、基本の代謝活性の基本線の測定が、確立される。

【0231】

標準記録プロトコルは、 $100 \mu\text{l}$ / 分流速を特定し、その2分の総ポンプサイクルが、30秒の流れの中断を含み、その間に酸性化速度測定が行われる。リガンド誘発は、最初の後誘発速度測定が行われる直前に、サンプルに対する1分20秒の露出、続いて総計5分20秒のサンプル露出について2回の追加のポンプサイクルを包含する。典型的には、一次スクリーンでの薬剤は、 $10 \mu\text{M}$ 最終濃度で細胞に表現される。

【0232】

その後、閾値から最大レベルまでの範囲にある反応を発生するために必要とされる量を超える薬剤濃度範囲で細胞を連続的に誘発することによって、活性化化合物の用量依存性を試験する追跡試験を行う。その後、リガンドサンプルを流し出し、そして報告される酸性化速度は、発生の直前に観察される基本線速度を越え

て、ピーク反応の増加率として表される。

【0233】

MAPキナーゼアッセイ

MAPキナーゼ(分裂促進因子活性化キナーゼ)は、受容体活性化を評価するために監視されうる。MAPキナーゼは、細胞における複数の経路によって活性化される。活性化の一次態様は、ras/raf/MEK/MAPキナーゼ経路を包含する。成長因子(トリプシンキナーゼ)受容体は、SHC/Grb-2/SOS/rasを介してこの経路に供給する。Gi結合受容体は、rasを活性化し、そしてMAPキナーゼの活性化を連続して生成することも知られている。ホスホリパーゼCを活性化する受容体(Gq/G11結合のような)は、ホスファチジルイノシトール加水分解の結果として、ジアシルグリセロール(DAG)を生成する。DAGは、AMPキナーゼを順次リン酸化するタンパク質キナーゼCを活性化する。

【0234】

MAPキナーゼ活性化は、数種のアプローチによって検出されうる。1つのアプローチは、未リン酸化(不活性)またはリン酸化(活性)のいずれかであるリン酸化状態の評価に基づく。リン酸化タンパク質は、SDS-PAGEでゆっくりした移動度を示し、したがって、ウエスタンブロッティングを使用して未刺激タンパク質と比較されうる。代わりに、リン酸化キナーゼにおける増加を検出するために使用できるリン酸化タンパク質に特異的な抗体は、利用可能である(ニュー・イングランド・バイオラズ(New England Biolabs))。いずれかの方法で、細胞は、試験化合物で刺激され、そしてその後、レムリ緩衝液で抽出させる。溶解性フラクションを、SDS-PAGEゲルに使用し、そしてタンパク質を、電気泳動でニトロセルロースまたはイムノビロンに移す。免疫反応性バンドは、標準ウエスタンブロッティング技術によって検出される。可視性または化学発光シグナルは、フィルム上に記録され、そして密度測定法によって定量されうる。

【0235】

別のアプローチは、リン酸化アッセイを介したAMPキナーゼ活性の評価に基

づく。試験化合物で、細胞を刺激し、そして溶解性抽出物を作成する。抽出物を、30分で、10分間、ATP調節系であるガンマ- ^{32}P -ATP、およびインシュリンによって調節されるリン酸化された熱および酸安定性タンパク質、またはPHAS-IのようなMAPキナーゼに特異的な基質、とインキュベートする。反応は、 H_3PO_4 の添加によって終結され、そしてサンプルは、氷に移される。ワットマンP81クロマトグラフィー紙上に、アリコート量をスポット付けし、そしてそれは、リン酸化タンパク質を保持する。クロマトグラフィー紙を洗浄し、そして液体シンチレーションカウンターで ^{32}P について計数する。代わりに、細胞抽出物を、ATP調節系であるガンマ- ^{32}P -ATP、およびフィルター支持体にストレプトアビジンによって結合されたビオチン化ミエリン基本のタンパク質とインキュベートする。ミエリン基本のタンパク質は、活性化MAPキナーゼに対する基質である。リン酸化反応を、10分間、30で行う。その後、抽出物は、フィルターを通して吸引されることにより、そしてそれは、リン酸化ミエリン基本のタンパク質を保持する。フィルターを洗浄し、そして液体シンチレーション計数によって ^{32}P について計数する。

【0236】

細胞増殖アッセイ

オーファン受容体の受容体活性化は、 ^3H チミジン摂取を介して監視されうる分裂促進または増殖反応に至る可能性がある。培養される細胞が、 ^3H チミジンでインキュベートされる場合、チミジンは、それが、三リン酸チミジンにリン酸化される核に転位される。その後、三リン酸ヌクレオチドを、細胞成長の速度に比例する速度で、細胞のDNAに組込む。典型的には、細胞は、1~3日間、培地中で育成される。細胞を、24時間、血清の除去によって静止させる。その後、分裂促進剤は、培地に添加される。24時間後、細胞を、2~6時間、1から $10\ \mu\text{Ci}/\text{ml}$ の範囲にある比活性で、 ^3H -チミジンでインキュベートする。収穫手段は、トリプシン処理、そして溶解性チミジンを抽出するためにTCAでの前インキュベーションと共に、またはなしに、GF/Cフィルターを越える濾過による細胞の捕獲を包含できる。フィルターは、蛍光物で加工され、そして液体シンチレーション計数によって ^3H について計数される。代わりに、粘着細

胞は、MeOHまたはTCAで固定され、水で洗浄し、そして0.05%デオキシクロレート/0.1N NaOHに可溶化される。溶解性抽出物が、シンチレーションバイアルに移動され、そして液体シンチレーション計数によって³Hについて計数される。

【0237】

代わりに、細胞増殖は、内因性または異種の遺伝子産物の発現を測定することによって分析され、オーファン受容体をトランスフェクションするために使用されるセルラインによって発現され得て、そしてそれは、それに限定されないが、蛍光強度、酵素的活性、免疫反応性、DNAハイブリッド形成、ポリメラーゼ連鎖反応などのような方法によって検出されうる。

【0238】

乱交雑二次メッセンジャーアッセイ

先行のもの、およびGPCR配列に唯一基づいて、細胞の多くの異なるシグナル発生経路のいずれかの所定のオーファン受容体が、自然に使用するかを推定することは可能でない。しかし、様々なクラスの受容体をうまく扱って、乱交雑のGサブユニットの使用を介した予備選択経路を通してシグナル発生させることは可能である。例えば、細胞基本の受容体アッセイ系に、特異的シグナル発生経路（例えば、G_s、G_i、G_q、G_oなど）を通して結合することを正常に好みうる、G₁₅またはG₁₆のような内因的に供給される乱交雑のGサブユニット、またはGPCRであるG_{qz}のようなキメラGサブユニットを供給することによって、乱交雑Gサブユニットによって定義される経路を通して結合され、そしてアゴニスト活性化により、そのサブユニットの経路と関連した第二メッセンジャーを生じうる。G₁₅、G₁₆および/またはG_{qz}の場合には、これは、G_q経路の活性化、および第二メッセンジャーIP₃の発生を包含する。同様の攻略法および道具の使用を通して、Ca⁺⁺、cAMPおよびK⁺の流れのような他の第二メッセンジャーを生じる経路を通してシグナルを発生する受容体を偏らせることは可能である（Milligan、1999年）。

【0239】

これは、オーファン受容体を外因的に供給されるGサブユニットの乱交雑相

相互作用が、各々の見込みのあるシグナル発生経路について異なるアッセイを行う必要性を軽減し、そして受容体活性化による機能性シグナルを検出する機会を増すことに繋がる。

【0240】

アフリカツメガエルの卵母細胞における流れを記録する方法

卵母細胞を、アフリカツメガエル・レビス (*Xenopus laevis*) から収穫し、そして先に記述されるとおりmRNA転写物を注入する (QuickおよびLester、1994年; Smithら、1997年)。本発明の試験受容体およびGサブユニットRNA転写物は、遺伝子の完全コーディング領域を含む、線状プラスミドまたはPCR産物からT7ポリメラーゼ(「メッセージ機械」、アンピオン)を使用して合成される。卵母細胞に、10ng合成受容体RNAを注入し、そして3~8日間、17度でインキュベートさせる。記録の3から8時間前に、Ca⁺⁺に対する結合を観察するために、卵母細胞に、500pg乱交雑GサブユニットmRNAを注入し、Cl⁻の流れを活性化させる。1~2Mオームの抵抗を示す3M KCl充填ガラス微小電極を用いて、双極電極電圧固定(アキソン・インストルメンツ・インク。(Axon Instruments Inc.))を行う。特に指示されない限り、卵母細胞は、-80mVの維持電位で電圧固定される。記録の間に、卵母細胞は、96mM NaCl、2mM KCl、1.8mM CaCl₂、1mM MgCl₂、および5mM HEPES、pH7.5(ND96)を含む培地を継続的に流す(1~3ml/分)ことで浴に入れられる。卵母細胞から0.5mmの距離で固定された10μlガラス製毛細管からの局所還流によるか、または一連の重力供給還流ラインから切り替えることによって、薬剤を使用する。

【0241】

他の卵母細胞に、Gタンパク質活性化内向整流器チャネル(GIRK1およびGIRK4、米国特許番号第5,734,021号および第5,728,535号、またはGIRK1およびGIRK2)または任意の他の適切な組合せ(例えば、Inanobeら、1999年)についての遺伝子をコードする受容体mRNAおよび合成mRNAの混合物を注入する。K⁺(GIRK)チャネル1、2

および4 (GIRK1、GIRK2、およびGIRK4)を内向きに整流するGタンパク質をコードする遺伝子は、適切な5'および3'プライマーを誘導する公表された配列(Kubora、1993年;Dascalら、1993年;Krapivinskyら、1995年および1995年b)を使用するPCRによって得ることができる。ヒトの心臓または脳cDNAは、適切なプライマーと一緒にテンプレートとして使用されうる。

【0242】

アフリカツメガエルの卵母細胞中でのGPCRの異種発現は、アゴニスト刺激によって活性化されるシグナル発生経路の同定を決定するために広範に使用されてきた(Gundersenら、1983年;Takahashiら、1987年)。ホスホリパーゼC(PLC)経路の活性化は、哺乳類のオーファン受容体(乱交雑Gタンパク質と共に、またはなしに)についてのmRNAを先に注入された卵母細胞に、ND96溶液中の試験化合物を使用し、そして-80mVの維持電位で内部電流を観察することによって分析される。-25mVで逆行し、そしてCa⁺⁺活性化Cl⁻(塩素)チャネルの他の特性を示す電流の外観は、PLCの哺乳類受容体活性化、およびIP3および細胞内Ca⁺⁺の放出を示す。このような活性は、G_qまたはG₁₁に結合するGPCRによって示される。

【0243】

K⁺(カリウム)チャネル(GIRK)活性を内向きに整流する方法は、哺乳類のオーファン受容体足すGIRKサブユニットをコードするmRNAと同時注入された卵母細胞で監視されうる。GIRK遺伝子産物は、同時に集めて、G_iまたはG_oに結合する多数のGPCRによって活性化される(すなわち、刺激される)ことが知られたGタンパク質活性化カリウムチャネルを形成する(Kubora、1993年;Dascalら、1993年)。哺乳類のオーファン受容体足すGIRKサブユニットを発現する卵母細胞は、49mM K⁺を含有する上昇したK⁺溶液中のK⁺電流を測定することによって、試験化合物の反応性について試験される。

【0244】

本発明では、卵母細胞を、アフリカツメガエル・レビスから収穫し、そして先

に記述されたとおり (QuickおよびLester, 1994年; Smithら、1997年) mRNA転写物を注入した。SNORF36a RNA転写物を、Not Iで線状化されたプラスミドBO109から得られるT7ポリメラーゼ(「メッセージ機械」、アンピオン)を用いて合成した。卵母細胞に、5~25 ng合成RNAを注入し、そして17 で、3~8日間インキュベートした。双極電極電圧固定(アクソン・インストルメンツ・インク.)を、1~2 Mオームの抵抗を示す3 M KCl充填ガラス製微小電極を用いて行った。特に指示されない限り、卵母細胞は、-80 mVの維持電位で固定された電圧であった。記録の間、卵母細胞を、96 mM NaCl、2 mM KCl、1.8 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、5 mM HEPES、pH 7.5 (ND96)、および適切なリガンドを含む培地を継続的に流す(1~3 ml/分)ことで浴に入れられる。

【0245】

実験は、光学写真暗室光(「ブライトラボ・ジュニア」安全光)下で行われるべき、化合物秤量、最終希釈および卵母細胞を記録することが要求される最小光条件下で行われた。同じ場合には、リガンドは、秤量手段の間じゅう室内光(5~10分)に簡潔に曝された。卵母細胞からの生理学上の反応を引出すために、光刺激は、卵母細胞から30 cmの距離で設置された60 Wタングステンランプであった。一連の重力供給還流ラインから切り替えるながら洗い流すことによるか、または卵母細胞から0.5 mmの距離で固定された10 μlガラス製毛細管からの局所還流によって、薬剤を使用した。実験は、室温で行われた。全ての値は、平均±平均の標準差異として表される。

【0246】

膜標品

本発明の受容体タンパク質を発現する細胞膜は、それに限定されないが、リガンド結合アッセイ、GTP-g-S結合アッセイ、およびその他を含めたある型のアッセイに有用である。このような細胞膜を製造する細目は、ある種の場合には、保証するアッセイの特性によって決定され得るが、しかし全細胞を収穫すること、および氷冷緩衝液(例えば、20 mM トリスHCl、mM EDTA、4

でpH7.4)中で音波処理することにより細胞ペレットを混乱させることを典型的に包含する。生じる粗細胞溶解物は、4 で、5分間、200×gでの低速遠心によって細胞残骸から透明にされる。その後、透明になった上清を、4 で20分間、40,000×gで遠心し、そして生じる膜ペレットを、氷冷緩衝液に浮遊させ、そして高速遠心段階を繰返すことによって洗浄する。第集洗浄膜ペレットは、アッセイ緩衝液で再浮遊される。タンパク質濃度は、標準としてウシ血清アルブミンを使用したBradford(1976年)の方法によって測定される。膜は、すぐに使用されても、または後に使用するために凍結されてもよい。

【0247】

バキュロウイルスの世代

ここに開示されるヒト受容体をコードするDNAのコーディング領域を、存在する制限部位、またはポリペプチドのコーディング領域に対する配列5'および3'に操作される部位に、pBlueBacIIIにサブクローニングする。バキュロウイルスを発生させるために、0.5μgのウイルス性DNA(バキュロゴールド(BaculoGold))および3μgのポリペプチドをコードするDNA構築物は、Parmingen(「バキュロウイルス発現ベクター系：手段および方法の手引き」)によって概説されるとおり、リン酸カルシウム同時沈殿法によって、 2×10^6 個のスポドプテラ・フラジペラダ(Spodoptera frugiperda)昆虫Sf9細胞にトランスフェクションされる。その後、細胞を、27 で5日間インキュベートさせる。

【0248】

同時トランスフェクションプレートの上清を、遠心分離によって収集し、そして組換えウイルスプラークを精製しうる。ウイルスの保存を作成するため、およびウイルス保存を滴定するためのウイルスに細胞を感染させる手段は、ファルミンゲンの手引きで記述されるとおりである。

【0249】

ヒトおよびラットSNORF36についてのmRNAコーディングの局在化
実際の時間検出で、フッ素作動性プローブを使用した定量的RT-PCR：フ

ッ素作動性プローブ、およびヒトから抽出されるmRNAのパネル、およびラット組織から抽出される総RNAを使用した定量的RT-PCRは、ラットおよびヒトSNORF36の局在化を特徴づけるために使用された。

【0250】

このアッセイは、従来のPCR増幅のための2つのオリゴヌクレオチド、およびオリゴヌクレオチドの5'末端にレポーターで、そして3'末端でクエンチャーで標識された第三の特異的オリゴヌクレオチドプローブを利用する。本発明では、FAM(6-カルボキシフルオレセイン)およびJOE(6カルボキシ-4,5-ジクロロ-2,7-ジメトキシフルオレセイン)は、利用された2つのレポーターであり、そしてTAMRA(6-カルボキシ-4,7,2,7'-テトラメチルロダミン)は、クエンチャーであった。増幅が進行するとき、標識オリゴヌクレオチドプローブは、増幅のために使用された2つのオリゴヌクレオチドの間の遺伝子配列にハイブリッド形成する。TaqまたはrTth熱安定性DNAポリメラーゼのヌクレアーゼ活性は、標識プローブを開裂するために利用される。これは、クエンチャーを、レポーターから分離し、そして発生されるアンプリコンの量に直接比例している蛍光シグナルを発生させる。この標識プローブは、高度の特異性を供与する。非特異的増幅は、標識プローブがハイブリッド形成しないので検出されない。全実験は、PE7700配列決定システム(パーキン・エルマー、カリフォルニア州フォスター・シティー)で行われた。

【0251】

定量的RT-PCR: SNORF36受容体をコードするRNAの検出のために、定量的RT-PCRを、組織から抽出されるmRNAで行った。逆行転写およびPCR反応は、rTthDNAポリメラーゼ(パーキン・エルマー)を用いて、50µl容積で行われた。

【0252】

ヒトSNORF36についてのプライマーは、選択的(SNORF36b)に、またはSNORF36aおよびSNORF36bの両方に共通の領域に対する長いサブタイプを増幅するように設計された。短いサブタイプ(SNORF36a)をコードするRNAの量は、SNORF36bの量から総SNORF36の

量を引くことによって計算された。以下の配列を示すプライマーが使用された。

【0253】

ヒトSNORF36サブタイプ非選択性：

順行プライマー：

SNORF36b2-457F

【化2】

5'-GGCTGCGAGTTCTATGCCTT-3' (SEQ ID NO: 36)

逆行プライマー：

SNORF36b2-547r

【化3】

5'-TTACCAGGTAGCGGTCCAGG-3' (SEQ ID NO: 37)

フッ素作動性オリゴヌクレオチドプローブ：

SNORF36b2-483T

【化4】

5' (6-FAM)-AGCTCTCTTTGGCATTTCCTCCATGATCA--(TAMRA)3' (SEQ ID NO: 38)

ヒトSNORF36b(長いサブタイプ)選択性：

順行プライマー：

SNORF36bse1-256F

【化5】

5'-CTGGGCAACCTGACGGTC-3' (SEQ ID NO: 39)

逆行プライマー：

SNORF36bse1-346R

【化6】

5'-CAGGTGTCCGGAGGCTTCT-3' (SEQ ID NO: 40)

フッ素作動性オリゴヌクレオチドプローブ:

SNORF36 b b sel - 294 T

【化7】

5' (6-FAM)-TG TGCTTCGTGGAGTCACTGTGATGAT-(TAMRA) 3' (SEQ ID NO: 41)

ラットSNORF36

順行プライマー:

SNORF36 - ラット - 34 F

【化8】

5'-TCCACTGGCCACCATCG-3' (SEQ ID NO: 42)

逆行プライマー:

SNORF36 - ラット - 107 R

【化9】

5'-GGGCATAGAGCCAGACACCTAG-3' (SEQ ID NO: 43)

フッ素作動性オリゴヌクレオチドプローブ:

SNORF36 - ラット - 52 T

【化10】

5' (6-FAM)-CATGAGATCCAAGAGACGGACGGCA-(TAMRA) 3'
(SEQ ID NO: 44)

これらのプライマー対を使用して、アプ리콘長は、ヒトSNORF36 - 非サブタイプ - 選択性については90bpで、ヒトSNORF36b - 選択性につ

いては90bpで、そしてラットSNORF36については73bpである。各ヒトSNORF36RT-PCR反応は、50ng mRNAを含有し、そして各ラットSNORF36 RT-PCR反応は、100ng総RNAを含有した。オリゴヌクレオチド濃度は、500nMの順行および逆行プライマー、および200nMのフッ素作動性プローブであった。各反応での試薬の濃度は、300μMの各々のdGTP；dATP；dCTP；600μMのUTP；3.0mM Mn(OAc)2；50mMピシン；115mM酢酸カリウム、8%グリセロール、5単位rTthDNAポリメラーゼ、および0.5単位のウラシルN-グリコシラーゼであった。RT-PCR反応のための緩衝液は、受動的参照(ROX；パーキン・エルマーの商標登録された受動参照I)として使用されるフルオロ口も含有した。RT-PCRについての全試薬(mRNAおよびオリゴヌクレオチドプライマーを除いて)は、パーキン・エルマー(カリフォルニア州フォスター・シティー)から得られた。反応は、以下の温度サイクルプロファイルを用いて行われた：50 で2分、60 で30分、95 で5分、続いて94 で20秒、62 で1分の40サイクル。

【0254】

PCR反応についての陽性対照は、利用できる場合にプラスミド構造物から得られる標的配列の増幅から構成された。ヒトSNORF36の定量のための標準曲線は、プラスミド構築物中のSNORF36遺伝子を使用して構築された。全脳から抽出されたRNAは、ラットSNORF36についての標準曲線を構築するために使用された。陰性対照は、mRNAブランク、並びにプライマーおよびmRNAブランクから構築された。mRNAが、ゲノムDNAで混入されなかったことを確認するために、PCR反応は、TaqDNAポリメラーゼを使用する逆転写なしで行われた。RNAの完全性は、シクロフィリンまたはグリセルアルデヒド・3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ(GAPDH)をコードするRNAの増幅によって評価された。逆転写およびPCR増幅に続いて、データは、パーキン・エルマー配列検出ソフトウェアを使用して分析された。各ウエルから得られる蛍光シグナルは、内部受動対照を使用して正常化され、そしてデータは、SNORF36 mRNA発現の相対的量を得るために標準曲線に適合された。

【0255】

ヒト網膜中のSNORF36 mRNAの発現

SNORF36 mRNAが、網膜で発現されているかどうかを決定するために、RT-PCRは、2つの異なるプライマー対(BB788、順行SNORF36プライマー、BB789で、逆行SNORF36プライマー；またはBB796、順行SNORF36プライマー、BB798で逆行SNORF36プライマー)を用いて、ヒト網膜のクイック・クローンcDNA(クローンテック、カリフォルニア州パロアルト)で行われた。以下の条件のもとで、エクスパンド・ロング・テンプレートPCRシステム(ロシュ・モレキュラー・バイオケミカルズ、インディアナ州インディアナポリス)を使用して、PCRを行った：94 で5分間維持；94 で30秒間、68 で1.5分間の40サイクル；68 で7分間維持；生成物が、アガロースゲル電気泳動の準備ができるまで4 で維持。対照として、類似のPCR反応は、ヒト全脳クイック・クローンcDNA、ヒトゲノムDNA(クローンテック、カリフォルニア州パロアルト)を使用して、またはテンプレートとして水を使用して行われた。

【0256】

【化11】

BB788	5'-- TCCTCCATGATCACCCCTGACGGC -3' (SEQ ID NO: 45)
BB789	5'-- TCTGGAGAGCCCGTCCTGTCTCC -3' (SEQ ID NO: 46)
BB796	5'-- GGCAACCTGACGGTCATCTATAACC -3' (SEQ ID NO: 47)
BB798	5'-- TTGGACGCCACACCAAAGGTGGCC -3' (SEQ ID NO: 48)

ヒトSNORF36受容体遺伝子についての染色体の局在化

ヒトSNORF36受容体遺伝子についての染色体の局在化は、スタンフォード・ヒューマン・ゲノム・センター(SHGC)により製造される放射性ハイブリッドのパネルを使用して確立され、そしてリサーチ・ジェネティク、インクにより分布された。83放射性ハイブリッドの「スタンフォードG3」パネルは、局在化のために使用される場合と同じプライマー、プローブおよび熱サイクラープロファイルを使用してPCRによって分析された。20 ngのDNAは、

各PCR反応で使用された。データは、SNORF36遺伝子配列を、特異的マーカーに連結したRHサーバー(SHGC)に提示された。NCBIローカスリンクおよびNCBIジーンマップ'99は、データをさらに分析するために使用された。

【0257】

結果および検討

ヒトSNORF36受容体の断片の同定

ヒト胎盤ゲノムライブラリーを、減じた緊縮条件下で、ヒトセロトニン5-HT_{1D}受容体の第三、第五および第六の膜貫通領域に向けられたオリゴヌクレオチドプローブでスクリーニングした。陽性にハイブリッド形成するクローンを、単離し、ブランク精製し、サザンブロット分析によって特徴づけされ、そして配列決定した。1つのクローンhp10bは、ヒト5-HT_{1D}-由来のオリゴヌクレオチドプローブでハイブリッド形成し、そしてpUCベクターに連続的にサブクローニングされた2.3kbHindIII/XbaI断片を含有した。K39と称されるこのクローンは、TMIIおよびTMIIIをコードする部分的遺伝子断片、および見込みのある推定的新規GPCRの下流イントロンであった。

【0258】

全長ヒトSNORF36受容体の単離

この受容体についての別の配列を得るために、ヒト海馬cDNAライブラリーは、K39に向けられたプライマーを用いたPCRによってスクリーニングされた。1つの陽性プールは、単独クローンTL252が単離されるまで、首尾よく細分された。このクローンのDNA配列決定は、それが、TM IからTMVIIまでを含有するが、しかしNH₂およびCOOH末端を欠いていることを示した。開始メチオニンおよび停止コドンを含む残りの配列は、ヒト海馬cDNAで行われた5'および3'RACEによって得られた。ヒト海馬cDNAライブラリーは、再スクリーニングし、そしてTM Iから停止コドンを含む260-13-1および143-33-3の2つの陽性クローンを同定した。これらの2つのクローンは、TL252に存在しなかった第一の細胞内ループで両方とも11

アミノ酸挿入物を有した。

【0259】

SNORF36a(11アミノ酸挿入物なし)についての全長cDNAクローンは、ヒト海馬ライブラリープール260.13.1から得られる1180bp Bgl I / EcoR I断片に加えて、海馬cDNA PCR産物から得られる1021bp BamH I / Bgl I断片と一緒に、BamH I / EcoR I切断pcDNA3.1に連結することによって得られた。この構築物BO108は、部位特異的突然変異によって訂正された単独のヌクレオチド突然変異を示した。訂正構築物BO109は、pcDNA3.1-hSNORF36a-fと改めて命名された。ヒト海馬cDNAから得られる9つの独立なPCR産物の分析は、対立遺伝子変動の存在を示した。ヌクレオチド39(図1A~1Cおよび3A~3C)は、アデニンまたはグアニンのいずれかである。SNORF36bについての全長クローン(11アミノ酸挿入物と共に)は、上に記述されるPCR産物の1つから得られる390bp BamH I / Nsp I断片に加えて、BO108のPCRから得られる1130bp Nsp I / HindIII断片と一緒に、BamH I / EcoR I切断pcDNA3.1に連結することによって得られた。生じるSNORF36b構築物BO110は、pcDNA3.1-hSNORF36b-fと改めて命名された。

【0260】

SNORF36での最大開放読取り枠は、1434ヌクレオチドであり、そしてそれは、478アミノ酸のタンパク質をコードすることが推定される。下流メチオニンを使用することが、1377ヌクレオチドの開放枠を生じ、そして459アミノ酸のタンパク質をコードすることが推定される。SNORF36aのヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、それぞれ、図1A~1Cおよび2A~2Bで示された。SNORF36bでの最大開放読取り枠は、1467ヌクレオチドであり、そしてそれは、489アミノ酸のタンパク質をコードすることが推定される。下流メチオニンを使用することが、1410ヌクレオチドの開放枠を生じ、そして470アミノ酸のタンパク質をコードすることが推定される。SNORF36のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、それぞれ、図3A~3Cおよび4A

~ 4 Cで示された。SNORF 36 aおよびSNORF 36 bタンパク質の両方の水治療法分析は、7つの膜貫通ドメインの推定局所解剖学と首尾一貫しており、Gタンパク質結合受容体ファミリーを示す。

【0261】

ゲンバンクに含まれる配列EMBLとの、ヒトSNORF 36 aおよびSNORF 36 bのヌクレオチドおよびペプチド配列の比較、およびスイスプロットプラス・データベースは、これらのクローンのアミノ酸配列は、アフリカツメガエル・メラノプシン受容体(45%同一性)、巨大タコのロドプシン(38%同一性)、巨大ホタテガイのロドプシン(36%同一性)、ニホントビイカおよびナマズのロドプシン(35%同一性)、イカのロドプシン(34%同一性)、ヒトペロプシンおよびヒトRGR(31%同一性)、ヒトのエンセファロプシン(30%同一性)、ヒトのロドプシン(28%同一性)およびウシのロドプシン(27%同一性)にほとんど関連することを示す。ゲンバンクデータベース(ゲネンブル、STS、EST、GSS、またはスイスプロット)に、SNORF 36と一致する配列はなかった。

【0262】

ヒトSNORF 36 aおよびSNORF 36 bは、第一の細胞内ループ(これらの区分での数は、図4A~4CにSNORF 36 bに関連する)中のセリン111、第二の細胞内ループ中のセリン194、第三の細胞内ループ中のトレオニン276、およびカルボキシル末端尾部中のセリン386、395、および415およびトレオニン399に、7つの強力なタンパク質キナーゼC(PKC)リン酸化モチーフを有する。第一の膜貫通ドメイン中のアスパラギン88に、1つの強力なN結合グリコシル化部位、そしてセリン390に1つのcAMPリン酸化部位もある。SNORF 36 aおよびSNORF 36 bは、セリン425に、そしてカルボキシ末端尾部にトレオニン432に、2つの強力なカゼインキナーゼIIリン酸化部位をも有する。

【0263】

SNORF 36のラット相同体の断片の単離

ヒトSNORF 36に対して設計されたオリゴヌクレオチドプライマーを使用

した低緊縮PCRによって、SNORF36のラット相同体の断片を、ラットゲノムDNAから増幅させた。その後、この断片の配列は、高緊縮下で、ラット脊髄cDNAからSNORF36断片を増幅するために使用されたラットSNORF36 PCRプライマーを発生するために使用された。この断片KO56は、TMI Iの3'末端からTMVの中間まで、ラットSNORF36の250ヌクレオチドを含有する。ラットSNORF36断片のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、それぞれ、図5および6に示される。ラットSNORF36断片は、ヒトSNORF36と、86%ヌクレオチドおよび88%アミノ酸同一性を共有する(図7および8)。KO56は、pEXJ-T3T7-rSNORF36pと改めて命名された。ラットSNORF36に一致するゲンバンク・データベース(ゲネンブル、STS、EST、GSS、またはスイスプロット)に配列はない。

【0264】

全長ラットSNORF36受容体の単離

ラットSNORF36についての全長cDNAを得るために、ラット脊髄cDNAライブラリーは、ラットSNORF36断片KO56に対して向けられたプライマーを使用したPCRによってスクリーニングされた。1つの陽性プールは、単独クローンBO132が単離されるまで、首尾よく細分された。このクローンのDNA配列決定は、それが、1422ヌクレオチド、5'UTの148ヌクレオチド、および3'UTのおよそ1000ヌクレオチドの開放読取り枠を含むことを示した。発現ベクターpEXJ.T7における構築物BO132は、pEXJ.T7-rSNORF36fと改めて命名された。

【0265】

ラットSNORF36構築物BO132中の最大の開放読取り枠は、1422ヌクレオチドであり、そしてそれは、474アミノ酸のタンパク質をコードすることが推定される。ラットSNORF36のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、それぞれ、図9A~9Cおよび10A~10Cに示される。ラットSNORF36タンパク質の水治療法分析は、7つの膜貫通ドメインの推定局所解剖学と首尾一貫しており、Gタンパク質結合受容体ファミリーを示す。

【0266】

ラットSNORF36は、ヒトSNORF36aと、81%ヌクレオチド同一性および79%アミノ酸同一性を共有する(それぞれ、図11A~11Dおよび12A~12B)。ゲンバンクに含まれる配列EMBLとの、ラットSNORF36のヌクレオチドおよびペプチド配列の比較、およびスイスプロットプラス・データベースは、これらのクローンのアミノ酸配列は、アフリカツメガエル・メラノプシン受容体(46%同一性)、巨大タコのロドプシンおよび巨大ホタテガイのロドプシン(35%同一性)、ナマズのロドプシン(34%同一性)、ニホントビイカおよびマウスのペロプシン(33%同一性)、ヒトRGR(32%同一性)、ヒトおよびウシのロドプシン(28%同一性)、およびヒトのエンセファロプシン(27%同一性)にほとんど関連することを示す。ゲンバンクデータベース(ゲネンブル、STS、EST、GSS、またはスイスプロット)に、ラットSNORF36と一致する配列はなかった。

【0267】

ラットSNORF36は、第二の細胞内ループ中のセリン183、第三の細胞内ループ中のトレオニン265、およびカルボキシル末端尾部中のセリン381および385、およびトレオニン460および463に、6つの強力なタンパク質キナーゼC(PKC)リン酸化モチーフを有する。アミノ酸末端尾部中のアスパラギン31および35に、そして第一の膜貫通ドメイン中のアスパルギン88に、3つの強力なN結合グリコシル化部位もある。第四の膜貫通ドメイン中のトレオニン187に1つのcAMPリン酸化部位が、そしてカルボキシ末端尾部中のセリン411および452に、そしてトレオニン418に、3つの強力なカゼインキナーゼIIリン酸化部位がある。

【0268】

SNORF36a - 発現細胞でのCa²⁺可動化およびホスホイノシチド加水分解

SNORF36aが、脊椎動物のオプシンに類似するので、それが、G_qタンパク質に結合でき、そしてホスホイノシチド加水分解、続いて細胞内Ca²⁺の放出を誘導しうるということが仮定された。したがって、Ca²⁺可動化およびリン

酸イノシトール (IP) 蓄積は、hSNORF36a - トランスフェクションされたCos-7細胞で評価された。FLIPRで暗所に保持されたhSNORF36a - トランスフェクションCos-7細胞のレーザー光への露出は、任意の外因性リガンドの不在下でCa²⁺可動化を生じた(図13A)。この観察は、おそらくレチナール異性体である内因性発色団が、hSNORF36受容体にすでに付着され、そしてレーザー光に対する露出が、リガンドの光異性化および受容体の活性化を生じたことを示唆した。この状況が、我々に、外因的に添加されたりリガンドの効果を研究させなかったため、我々は、それらを、実験の前に、90~120分間、光に曝すことによって、hSNORF36 - およびベクター - トランスフェクションされたCos-7細胞を光脱色した。光脱色は、光に対する露出が、内因性リガンドの光異性化を生じ、結局リガンドの放出および空の結合ポケットを有するオプシンの形成に至る現象である。この技術は、ロドプシンから内因性リガンドを広範に分離するために使用される。光脱色により、hSNORF36a - トランスフェクションしたCos-7細胞中のレーザー光に対するCa²⁺可動化反応は、減退されるか、または完全に消失されるかのいずれかであり(図13B)、それにより、内因性リガンドの分離が暗示される。したがって、光脱色は、特に指示されない限り、全ての連続実験のために使用された。

【0269】

オプシンは、11 - シス - レチナールの光異性化により形成された「天然の」アゴニストである全トランス - レチナール (SuryaおよびKnox、1998年) を含めた数種のレチナール類似体によって達成されうる。光脱色されたSNORF36a - トランスフェクションCos-7細胞にレチナール類似体を添加することにより、明らかなCa²⁺可動化が観察された(図14A、15A)。効能のランク順は、9 - シス - レチナール (EC₅₀: 152 nM) > 全 - トランス - レチナール (EC₅₀: 263 nM) > 13 - 9 - シス - レチナール (EC₅₀: 477 nM) であった(図15A参照)。全 - トランス - レチナールに類似する反応は、光脱色されたSNORF36a - トランスフェクションHEK293細胞で見られた(図15B)。対照的に、レチナールは、ベクター - トランスフェクションCos-7細胞での細胞内Ca²⁺レベルを変化しなかった

(図14B)。集約的に、これらの結果は、SNORF36aが、レチナールによって活性化されうるオプシンであることを示す。これらの結果をさらに確認するために、我々は、IP形態におけるSNORF36aの効果を試験した。³H-IP蓄積における濃度依存性増加は、ベクター-トランスフェクション細胞ではなく、光に露出されるSNORF36a-トランスフェクションCos-7細胞での全-トランス-レチナール添加により見られた(図16A)。対照的に、光に露出されないSNORF36a-トランスフェクションCos-7細胞では、全トランス-レチナールは、³H-IPレベルを変化せず、それにより光が、内因性リガンドの分解または受容体の活性化のいずれかについて要求されうること示す(図16B)。集約的に、これらの結果は、hSNORF36aの活性化は、細胞内Ca²⁺可動化の上流でありうるホスホイノシトール加水分解を誘導できることを示唆する。最終的に、我々は、レチナールに構造的に類似する-イオンによって、強力な拮抗を試験した。10 μM濃度での-イオンは、hSNORF36a-トランスフェクションCos-7細胞での全-トランス-レチナールおよび9-シス-レチナールに対する反応に明らかに拮抗した(図17Aおよび17B)。³H-イオンによる拮抗は、克服できないようであった(図17Aおよび17B)。これは、³H-イオン-hSNORF36相互作用の固有の特徴による可能性がある。代わりに、それは、アッセイに達成される半平衡条件を表しうる。それでもなお、これらの結果は、レチナール様構造が、この受容体に結合できることを確認する。これらの結果は、SNORF36aが、多分G_qGタンパク質を介して、Ca²⁺可動化およびホスホイノシチド加水分解に結合したオプシンであり、そしてレチナールによって活性化されることに注目して首尾一貫している。

【0270】

SNORF36aを発現する卵母細胞から得られる光の反応

哺乳類細胞を用いた実験は、レチナールの存在により刺激されるSNORF36aが、三リン酸イノシトールおよび細胞内遊離Ca²⁺の放出を含めた第二メッセンジャー反応を活性化できることを示唆する。アフリカツメガエル卵母細胞での異種発現は、ロドプシン(Khoranaら、1988年)を含めた、多様

なGタンパク質結合受容体のリガンド結合および機能活性を研究するために広範に使用された(Gundersenら、1983年;Takahashiら、1987年)。卵母細胞におけるPLC経路の活性化は、内因性 Ca^{2+} -活性化 Cl^- 電流の刺激を導く。我々は、SNORF36aを発現する卵母細胞が、レチノイドによって刺激されうるかどうか、そしてレチノイドに対する感受性は、光による活性化に依存するかどうかを捜し求めた。

【0271】

SNORF36aを発現する卵母細胞に対するレチノイドの急性投与により、暗所条件下で、または光刺激の後で、なんらイオンの流れは、検出されなかった。これは、リガンドの予備インキュベーションが、受容体の活性化を理解するために必要でありうることを示唆した。ウシオプシンを発現するアフリカツメガエル卵母細胞での光依存性イオン反応を検出するために、Khoranaおよび共同研究者ら(1988年)は、11-シス・レチナールと共に30~40分間、卵母細胞をインキュベートして、ロドプシン形成を可能にした。別の例では、アフリカツメガエルのメラニン保有細胞の光感受性は、全-トランスのレチナールを用いた数時間の予備インキュベーションに引き続いてのみ起ることが分かった(Rollag、1996年)。これらの例に続いて、SNORF36aを発現する卵母細胞は、ND96⁺⁺中で全-トランス-レチナール、13-シス-レチナール、または全-トランス-レチノール酸(ATRA)(各々100nMで)を用いて、24~48時間、暗所で予備インキュベートされた(図19)。電流振幅は、100から500nAまでの範囲にあり、そしてPLCを活性化することが知られる受容体の刺激により引出されるものに波形においてまったく類似するようであった(Gundersenら、1983年)。SNORF36a刺激により発生された電流は、ウシの桿状オプシンを発現する卵母細胞について報告されるもの(約5nA、Khoranaら、1988年)より、振幅において相当に大きかった。これについての理由は、これらの2つの受容体によって活性化された様々のシグナル形質導入経路によるようである。SNORF36aは、 G_q の活性化を介して細胞内 Ca^{2+} の放出を引起しうるのに対して、脊椎動物のオプシンは、トランスダシンに結合し、そしてPLC経路を直接的に活性化

できない。A T R A以外に、S N O R F 3 6 aを発現する卵母細胞を用いたインキュベーションの前の室内光にされされたレチノイドは、非露出レチノイドより明らかに大きな電流振幅（約5倍）を生じた（図18Bおよび19）。S N O R F 3 6 aのmRNAを注入されていない、全-トランス-レチナールまたは13-シス-レチナールを用いて予備インキュベートされた対照卵母細胞は、光にตอบสนองしなかった（図18C；n = 10個の卵母細胞）

ヒトS N O R F 3受容体をコードするRNAの検出

mRNAは、複数の組織（表1で列記された）から単離され、そして記述されるとおり分析された。

【0272】

ヒトS N O R F 3 6

フッ素作動性プローブを使用した定量的R T - P C Rは、ヒトS N O R F 3 6をコードするmRNAが、CNS組織で最高に優勢に配置されることが示された。分析された全CNS組織は、S N O R F 3 6 RNAの測定可能なレベルを示す。

【0273】

最高レベルが、尾状被殻、扁桃、および海馬に見られる。尾状被殻に対するS N O R F 3 6 RNAの高レベルの局在化は、ドーパミン作動性機能の調節、または錐体外路運動系の調節における役割を示す。海馬形成および扁桃におけるS N O R F 3 6 RNAの高レベルは、S N O R F 3 6が、学習および記憶の調節に関与するという仮説を支持する。それが、恐れ、気分の調節における役割をも有し得て、そして抑うつ症、不安、恐怖症、および気分障害の治療のための標的を提供しうる。S N O R F 3 6 RNAを含むCNSの他の領域は、骨髄および視床が挙げられ、それにより感覚伝達または調節（痛覚を含め）における重要な役割は、S N O R F 3 6は、黒質、視床下部、および小脳で低レベルでも発現される。CNSじゅうのS N O R F 3 6 RNAの広範な分布は、CNS内での複数の系での調節役割を暗示する。

【0274】

S N O R F 3 6 mRNAを発現するが、胎児の脳は、成人に見られるものより

いっそう低いレベルでそれをする。胎児の脳で、SNORF36RNAは、簡便に検出できる。胎児および成人の脳の中のmRNAレベルで70倍の差異がある。発達の調節が、CNS内の全ての領域でおこるか、または選択領域に制限されるかは、この時点で知られていない。この増加の時間経過は、実験されず、そしてこの受容体の機能を理解する上で重要である。

【0275】

末梢組織では、分析されたほとんどの組織は、検出可能なSNORF36mRNAレベルを表した。最大レベルのSNORF36mRNAを発現する抹消組織は、骨格筋、心臓および小腸である。これらの組織でのレベルは、最大CNS領域で検出されるものより10倍低い。これらの領域でのSNORF36mRNAの存在は、おそらく共通機構により、収縮性の調節における役割を暗示する。分析された他の組織は、表1で示されるとおり、低レベルのSNORF36mRNAを含む。

【0276】

両方のサブタイプ(SNORF36aおよびSNORF36b)を、全ての組織サンプルについて分析した。ヒトSNORF36についてのプライマーは、長いサブタイプ(SNORF36b)を選択的に増幅するように、またはSNORF36aおよびSNORF36bの両方に共通な領域に設計された。短いサブタイプ(SNORF36a)をコードするRNAの量は、SNORF36bの量を、総SNORF36の量から引くことによって計算された。分析されたほとんどの領域で、SNORF36aは、発現された、優性なサブタイプである。例外は、尾状被殻および胎児の肺である。これらの組織では、SNORF36aは、それぞれ、総SNORF36の31%および43%を占めた。しかし、分析された他の全ての組織では、SNORF36aは、組織中に存在する総SNORF36の60%から100%を占める。

【0277】

要約すると、ヒトSNORF36mRNAの分布は、CNSで、もっとも目だつては、錐体外路運動系の調節、辺縁系の調節での広範な調節機能を暗示する。末梢組織でのその存在は、たとえば低いレベルでも、複数の臓器系で広範な調

節の役割を暗示する。ほとんどの組織でのSNORF36aの優勢さは、機能的に、それが、優性なサブタイプであることを暗示する。

【0278】

ラットSNORF36

ヒトSNORF36受容体mRNAを用いたように、分析された全ての中樞神経系構造は、ラットSNORF36RNAを含む。しかし、ラットSNORF36RNAの最高レベルは、網膜で見られた(表2)。網膜は、任意の他の組織より5倍多くSNORF36をコードするRNAを含む。網膜で見られる最高レベルは、視覚または光エンライメントにおける機能を暗示する。ラットSNORF36が、日周期で役割を果すという仮説は、SNORF36RNAの実質的レベルが、視床下部と同様に松果体腺でも発現されるという事実によって支持される(表2)。局在化および機能のデータは、SNORF36が、非桿状、非円錐の眼の光受容体であることを暗示する。非桿状、非円錐の眼の光受容体が、松果体腺での光エンライメント、およびメラトニン合成の調節に起因することが示唆された(Freedmanら、1999年、Lucasら、1999年)。

【0279】

高いレベルのSNORF36RNAを含む他の領域としては、三叉神経節、脊髄および髄質が挙げられる。これらの構造に対する局在化、並びに脊髄神経節での中程度のレベルは、痛覚刺激を含めた感覚伝達(または調節)における役割を強力に示唆する。髄質での局在化も、呼吸および心臓血管機能を制御する自律神経中枢の調節を暗示する。高いレベルのSNORF36RNAを含む他のCNS領域が、扁桃、および黒質を包含する。扁桃および他の辺縁系(または辺縁関連)構造における高いレベルは、気分、恐怖、恐怖症、不安の調節における役割を示唆し、そして抑うつ症および他の神経心理学的障害の治療のための治療標的を提供しうる。黒質(線条での発現と関連して)の局在化は、ドーパミン作動性系の調節における役割を暗示し、そしてパーキンソン病、または遅発性ジスキネジーのような運動障害の治療のための治療的標的を提供しうる。

【0280】

日周期の調節における強力な役割に加えて、先に記述された視床下部で発現さ

れる高いレベルのSNORF36 mRNAは、神経内分泌調節、食欲および視床下部によって調節される他の機能の調節における役割も示す。扁桃における高いレベルは、気分、恐怖、恐怖症、不安の調節における役割を示唆し、そして抑うつ症および他の神経心理学的障害の治療のための治療的標的を提供しうる。

【0281】

海馬形成、嗅球、大脳皮質、小脳および他の領域のような他の領域でのSNORF36 RNAの低いレベルの存在は、表2に示唆されるとおり複数の多様な機能を示唆する。

【0282】

高いレベルのSNORF36 RNAを発現する非神経組織としては、卵巣および精巣が挙げられる。これらの領域におけるレベルは、大脳皮質、および小脳を含めた多くのCNS領域(表2)に匹敵する。これは、神経または神経外機構により、内分泌調節または生殖機能における役割を強力に示唆する。中程度の量のSNORF36 mRNAを示す他の末梢組織は、表2に列記される。

【0283】

要約すると、網膜、松果体、および視床下部における高いレベルまたはSNORF36 RNAは、非桿状、非円錐の眼の光受容体としての役割が、日周期の調節に關与したことを示唆する。CNSを通してのラットSNORF36 mRNAの分布は、神経系での広範な調節機能を暗示する。強力な機能としては、感覚伝達の調節、錐体外路運動系の運動系の調節、および辺縁系の調節が挙げられる。卵巣および精巣は、SNORF36によって調節されうる複数の末梢臓器のなかにある。他の末梢組織でのこの存在は、たとえば低いレベルでも、複数の臓器系で広範な調節の役割を暗示する。

【0284】

表1 ヒトSNORF36受容体(長いおよび短い形態)をコードするmRNAの分布の要約

平均の最高発現組織の含有率(Cpu ± SEM)として表されるヒトSNORF36をコードするmRNAの量。

【0285】

【表1-1】

領域	最大の SNORF36 %	最大の SNORF 36b %	最大の SNORF 36a %	SNORF36 のSNORF 36a %	有効な使用
扁桃	50.10 ±5.73	14.64	35.47	70.78	抑うつ恐怖症、 不安、気分障害
尾状被殻	100.00 ±7.89	69.18	30.82	30.82	ドーパミン作動 性機能の調節、 錐体外路運動 系の調節
小脳	0.31 ±0.07	検出されず	0.31	100	運動調和
胎児脳	0.22 ±0.05	0.01	0.22	97.28	発達障害
胎児の腎臓	0.61 ±0.10	検出されず	0.61	100	発達障害
胎児の肝臓	0.04 ±0.01	0.01	0.03	63.08	発達障害
胎児の肺	0.42 ±0.11	0.24	0.18	42.79	発達障害
心臓	7.44 ±2.46	検出されず	7.44	100	心臓血管障害
海馬	26.28 ±1.76	10.52	15.76	59.96	認識／記憶
視床下部	0.77 ±0.07	0.04	0.72	94.49	食欲／肥満、 電解質平衡
腎臓	0.16 ±0.04	痕跡	0.16	100	高血圧、 電解質平衡
肝臓	痕跡	痕跡	0.02	NA	糖尿病
肺	痕跡	痕跡	0.03	NA	呼吸障害、喘息
膵臓	0.07 ±0.01	検出されず	0.07	100	糖尿病、 内分泌障害
下垂体	4.38 ±0.78	0.17	4.21	96.20	内分泌／神経 内分泌調節
胎盤	0.03 ±0.01	0.05 ±0.02	0.03	100	妊娠の異常
小腸	6.24 ±1.51	0.34	5.90	94.51	胃腸障害

【0286】

【表1-2】

領域	最大の SNORF36 %	最大の SNORF 36b %	最大の SNORF 36a %	SNORF36 の SNORF 36a %	有効な使用
脊髄	7.60 ±1.38	0.06	7.54	99.18	無痛覚、感覚調節および伝達
脾臓	0.10 ±0.02	痕跡	0.10	100	免疫障害
胃	痕跡	痕跡	痕跡	NA	胃腸障害
骨格筋	10.51 ±0.88	0.30	10.21	97.15	筋肉骨格障害
黒質	3.73 ±0.22	0.17	3.57	95.48	ドーパミン作動性機能の調節、運動調和の調節
視床	5.56 ±0.70	1.19	4.37	78.62	感覚統合障害
全脳	15.82 ±2.28	4.97	10.85	68.59	

表2 ラットSNORF36受容体をコードするmRNAの分布の要約

SNORF36をコードするmRNAは、最高発現組織の含有率(Cpu ± SEM)として表される：網膜 ± SEM。

【0287】

【表2-1】

組織	SNORF36	有効な使用
アジポース	1.93 ±0.21	代謝障害
副腎皮質	2.62 ±0.48	ステロイドホルモンの調節
副腎髄質	2.86 ±0.24	エピネフリン放出の調節
扁桃	9.52 ±0.75	抑うつ症、恐怖症、不安、気分障害
大動脈	1.08 ±0.07	心臓血管障害
腹腔神経叢	1.58 ±0.14	自律神経機能の調節
小脳	4.81 ±0.43	運動調和
大脳皮質	6.35 ±0.41	感覚および運動統合、認識

【0288】

【表2-2】

組織	SNORF36	有効な使用
コロイド髄質	7.02 ±0.93	脳脊髄液の調節
結腸	0.61 ±0.05	胃腸障害
脊髄神経節	4.18 ±0.23	感覚伝達
十二指腸	0.86 ±0.10	胃腸障害
心臓	1.79 ±0.19	心臓血管適応症
海馬	3.45 ±0.37	認識／記憶
視床下部	9.13 ±0.62	食欲／肥満、神経内分泌制御
腎臓	0.95 ±0.07	電解質平衡、高血圧
肝臓	痕跡	糖尿病
髄質	9.33 ±0.57	無痛覚、運動調和
中隔側坐核	4.29 ±0.36	ドーパミン作動性機能の調節、 薬剤嗜癖、神経心理学的障害
嗅球	3.96 ±0.33	嗅覚
卵巣	6.83 ±0.66	生殖機能
膵臓	0.30 ±0.04	糖尿病、内分泌障害
松果体	8.37 ±0.21	メラトニン放出の調節
下垂体	3.68 ±0.37	内分泌／神経内分泌調節
網膜	100 ±7.26	視覚障害、日周期
唾液腺	1.26 ±0.21	
脊髄	14.47 ±0.44	無痛覚、感覚調節および伝達

【0289】

【表2 - 3】

組織	SNORF36	有効な使用
脾臓	0.27 ±0.14	免疫障害
胃	0.30 ±0.02	胃腸障害
横紋筋	2.08 ±0.18	骨格筋障害
線条	3.72 ±0.67	ドーパミン作動性機能の調節、運動障害
黒質	11.92 ±2.46	ドーパミン作動性機能の調節、 運動調和の調節
精巣	5.48 ±0.21	生殖機能
視床	3.85 ±0.16	感覚統合障害
胸腺	3.07 ±0.37	免疫障害
三叉神経節	19.13 ±2.83	感覚伝達
膀胱	1.48 ±0.11	尿失禁
子宮	1.16 ±0.14	生殖異常
精管	2.85 ±0.21	生殖機能
全脳	4.12 ±0.39	

ヒト網膜におけるSNORF36 mRNAの発現

SNORF36 mRNAが、網膜で発現されるかどうかを決定するために、2対のSNORF36特異的プライマーを用いてヒト網膜cDNAでRT-PCRを行った。予想されたサイズの単独バンドは、各プライマー対についてのアガロースゲル電気泳動につづいて可視化された。ある程度弱いバンドが、テンプレートとして全脳cDNAを使用した類似のRT-PCR反応で観察された。対照的に、水が、テンプレートとして使用されたRT-PCR反応で観察されるバンドはなかった。両方のプライマー対が、イントロンを交差するように設計されたので、類似のサイズのバンドは、ゲノムDNAが、テンプレートとして使用される

RT-PCR反応で検出されなかった。これらの結果は、SNORF36 mRNAが、ヒト網膜で発現されることを示す。

【0290】

ヒトSNORF36受容体遺伝子の染色体の局在化

ヒトSNORF36遺伝子は、SHGC-57810およびSHGC-57490に地図付けし、そしてそれは、染色体10q22.3に局在化される。

【0291】

【参考文献】

参照文献

Arnheiter, H., "Eyes viewed from the skin" *Nature* 391:632-633 (1998).

Blackshaw, S., and Snyder, S.H., "Parapinopsin, a novel catfish opsin localized to the parapineal organ, defines a new gene family" *J. Neurosci.* 17:8083-8092 (1997).

Blackshaw, S., and Snyder, S.H., "Encephalopsin: a novel mammalian extraretinal opsin discretely localized in the brain" *J. Neurosci.* 19: 3681-3690 (1999).

Bradford, M.M., "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Anal. Biochem.* 72: 248-254 (1976).

Burns, C.C., et al., "Identification and deletion of sequences required for feline leukemia virus RNA packaging and construction of a high-titer feline leukemia virus packaging cell line", *Virology* 222(1): 14-20 (1996).

Bush, et al., "Nerve growth factor potentiates bradykinin-induced calcium influx and release in PC12 cells" *J. Neurochem.* 57: 562-574 (1991).

Campbell, et al., "Light treatment for sleep disorders: consensus report V. Age-related disturbances" *J. Biol. Rhythms* 10: 151-154 (1995).

Chan, T., et al., "Introduction of hydroxyl-bearing amino acids causes bathochromic spectral shifts in rhodopsin. Amino acid substitutions responsible for red-green color pigment spectral tuning" *J. Biol. Chem.* 267: 9478-9480 (1992).

Chu, Y.Y., et al., "Characterization of the rat A2a adenosine receptor gene", *DNA Cell Biol.* 15(4): 329-337 (1996).

Cohen, G.B., et al., "Constitutive activation of opsin: influence of charge at position 134 and size at position 296" *Biochem.* 32: 6111-6115 (1993).

Cooke, K.M., et al., "The effects of evening light exposure on the sleep of elderly women expressing sleep complaints" *J. Behav. Med.* 21: 103-114 (1998).

Dascal, N., et al., "Atrial G protein-activated K⁺ channel: expression cloning and molecular properties" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10235-10239 (1993).

Fong, T.M., et al., "Mutational analysis of neurokinin receptor function" *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 73(7): 860-865 (1995).

Foster, R.G., "Shedding light on the biological clock" *Neuron* 20: 829-832 (1998).

Foster, R.G., et al., "Opsin localization and chromophore retinoids identified within the basal brain of the lizard *Anolis carolinensis*" *J. Comp. Physiol. A.* 172: 33-45 (1993).

Foster, R.G., et al., "Identification of vertebrate deep brain photoreceptors" *Neurosci. Biobehav. Rev.* 18: 541-546 (1994).

Franke, H., et al., "An improved low-permeability in vitro-model of the blood-brain barrier: transport studies on retinoids, sucrose, haloperidol, caffeine and mannitol" *Brain Res.* 818: 65-71 (1999).

Freedman, M.S., et al., "Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors" *Science* 284: 502-504 (1999).

Gartner, W., and Towner, P., "Invertebrate visual pigments" *Photochem. Photobiol.* 62: 1-16 (1995).

Grace, M.S., et al., "Light perception in the vertebrate brain: an ultrastructural analysis of opsin- and vasoactive intestinal peptide-immunoreactive neurons in Iguanid lizards" *J. Comp. Neurol.* 367: 575-594 (1996).

Graziano, M.P. et al., "The amino terminal domain of the glucagon-like peptide-1 receptor is a critical determinant of subtype specificity" *Receptors Channels* 4(1): 9-17 (1996).

Guan, X.M., et al., "Determination of Structural Domains for G Protein Coupling and Ligand Binding in β_3 - Adrenergic Receptor" *Mol. Pharmacol.* 48(3): 492-498 (1995).

Gundersen, C.B., et al., "Serotonin receptors induced by exogenous messenger RNA in *Xenopus* oocytes" *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 219(1214): 103-109 (1983).

Han, M., et al., "The effects of amino acid replacements of glycine 121 on transmembrane helix 3 of rhodopsin" *J. Biol. Chem.* 271: 32330-32226 (1996).

Hao, W., and Fong, H.K.W., "The endogenous chromophore of retinal G protein-coupled receptor opsin from the pigment epithelium" *J. Biol. Chem.* 274: 6085-6090 (1999).

Hara-Nishimura, I., et al., "Cloning and nucleotide sequence of cDNA for retinochrome, retinal photoisomerase from the squid retina" *FEBS Lett.* 271: 106-110 (1990).

Hargrave, P.A., and McDowell, J.H., "Rhodopsin and phototransduction: a model system for G protein-linked receptors" *FASEB J* 6: 2323-2331 (1992).

Hu, S., et al., "Unbleachable rhodopsin with an 11-cis-locked eight-membered ring retinal: the visual transduction process", *Biochem.* 33: 408-416 (1994).

Inanobe, A., et al., "Characterization of G-protein-gated K⁺ channels composed of Kir3.2 subunits in dopaminergic neurons of the substantia nigra" *J. of Neuroscience* 19(3): 1006-1017 (1999).

Khorana, H.G., et al., "Expression of a bovine rhodopsin gene in *Xenopus* oocytes: demonstration of light-dependent ionic currents" *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85: 7917-7921 (1988).

Kiselev, A., and Subramaniam, S., "Activation and regeneration of rhodopsin in the insect visual cycle" *Science* 266: 1369-1373 (1994).

Kochendoerfer, G.G., et al., "Hoe color visual pigments are tuned" *Trends Biol. Sci.* 24: 300-305 (1999).

Krapivinsky, G., et al., "The cardiac inward rectifier K⁺ channel subunit, CIR, does not comprise the ATP-sensitive K⁺ channel, IKATP" *J. Biol. Chem.* 270: 28777-28779 (1995b).

Krapivinsky, G., et al., "The G-protein-gated atrial K⁺ channel IKACH is a heteromultimer of two inwardly rectifying K(+) -channel proteins" *Nature* 374: 135-141 (1995).

Kubo, Y., et al., "Primary structure and functional expression of a rat G-protein-coupled muscarinic potassium channel" *Nature* 364: 802-806 (1993).

Lack, L., and Wright, H., "The effect of evening bright light in delaying the circadian rhythms and lengthening the sleep of early morning awakening insomniacs" *Sleep* 16: 436-443 (1993).

Lazareno, S. and Birdsall, N.J.M. "Pharmacological characterization of acetylcholine stimulated [35S]-GTPγS binding mediated by human muscarinic m1-m4 receptors: antagonist studies", *Br. J. Pharmacology* 109: 1120-1127 (1993)

Lucas, R.J., et al., "Regulation of the mammalian pineal by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors" *Science* 284: 505-507 (1999).

Max, M., et al., "Pineal opsin: a nonvisual opsin expressed in chick pineal" *Science* 267: 1502-1506 (1995).

Max, M., et al., "Light-dependent activation of rod transducin by pineal opsin" *J. Biol. Chem.* 273: 26820-26826 (1998).

Milligan, G., et al., "Chimaeric G alpha proteins: their potential use in drug discovery" *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 118-124 (1999).

Muller, P.J., and Wilson, B.C., "An update on the penetration depth of 630 nm light in normal and malignant human brain tissue *in vivo*" *Phys. Med. Biol.* 31: 1295-1297 (1986).

Murphy, P. J., and Campbell, S.S., "Enhanced performance in elderly subjects following bright light treatment of sleep maintenance insomnia" *J. Sleep Res.* 5: 165-172 (1996).

Nobes, C., et al., "Activation of the GTP-binding protein Gq

by rhodopsin in squid photoreceptors" *Biochem. J.* 287: 545-548 (1992).

Okano, T., et al., "Pinopsin is a chicken pineal photoreceptive molecule" *Nature* 372: 94-97 (1994).

Oren, D.A., et al., "Treatment of seasonal affective disorder with green light and red light", *Am. J. Psychiatry* 148: 509-511 (1991).

Pardridge, W.M., et al., "Restricted transport of vitamin D and A derivatives through the rat blood-brain barrier" *J. Neurochem.* 44: 1138-1141 (1985).

Partonen, T., "Short note: magnetoreception attributed to the efficacy of light therapy" *Med. Hypotheses* 51: 447-448 (1998).

Provencio, I., et al., "Melanopsin: an opsin in melanophores, brain and eye" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 340-345 (1998).

Quick, M.W. and Lester, H.A., "Methods for expression of excitability proteins in *Xenopus* oocytes", *Meth. Neurosci.* 19: 261-279 (1994).

Refinetti, R., "Chronobiology: Business and Health Care" *Circadian Physiology*: pp. 127-160, CRC Press (1999).

Rollag, M.D., "Amphibian melanophores become photosensitive when treated with retinal" *J. Exp. Zoology* 275: 20-26 (1996).

Rosenthal, N.E., et al., "Phase-shifting effects of bright morning light as treatment for delayed sleep phase syndrome" *Sleep* 13: 354-361 (1990).

Salon, J.A. and Owicki, J.A., "Real-time measurements of receptor activity: Application of microphysiometric techniques to receptor biology" *Methods in Neuroscience* 25: 201-224, Academic Press (1996).

Sanger, F., et al., "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5463-5467 (1977).

Sedgwick, P.M., "Disorders of the sleep-wake cycle in adults" *Postgrad. Med. J.* 74: 134-138 (1998).

Silver, R., et al., "Coexpression of opsin- and VIP-like-immunoreactivity in CSF-contacting neurons of the avian brain" *Cell Tiss. Res.* 253: 189-198 (1988).

Smith, K.E., et al., "Expression cloning of a rat hypothalamic galanin receptor coupled to phosphoinositide turnover." *J. Biol. Chem.* 272: 24612-24616 (1997).

Soni, B.G., et al., "Novel retinal photoreceptors" *Nature* 394: 27-28 (1998).

Soni, B.G., et al., "A novel and ancient vertebrate opsin" *FEBS Lett.* 407: 279-283 (1997).

Spurney, R.F., et al., "The C-terminus of the thromboxane receptor contributes to coupling and desensitization in a mouse mesangial cellline", *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 283(1): 207-215 (1997).

Sun, H., et al., "Peropsin, a novel visual pigment-like protein located in the apical microvilli of the retinal pigment epithelium" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 9893-9898 (1997).

Surya, A., and Knox, B.E., "Enhancement of opsin activity by all-trans-retinal" *Exp. Eye Res.* 66: 599-603 (1998).

Surya, A., et al., "Transducin activation by the bovine opsin apoprotein" *J. Biol. Chem.* 270: 5024-5031 (1995).

Takahashi, T., et al., "Rat brain serotonin receptors in *Xenopus* oocytes are coupled by intracellular calcium to endogenous channels." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84(14): 5063-5067 (1987).

Takanaka, Y., et al., "Light-dependent expression of pinopsin gene in chicken pineal gland" *J. Neurochem.* 70: 908-913 (1998).

Tanaka, T., et al., "Lipocalin-type prostaglandin D-synthase (beta-trace) is a newly recognized type of retinoid transporter" *J. Biol. Chem.* 272: 15789-15795 (1997).

Tao, L., et al., "Structure and developmental expression of the mouse RGR opsin gene" *Mol. Vision* 4: 25-30 (1998).

Terakita, A., et al., "Selective activation of G-protein subtypes by vertebrate and invertebrate rhodopsins" *FEBS Lett.* 439: 110-114 (1998).

Terman, M., and Terman, J.S., "Bright light therapy: side effects and benefits across the symptom spectrum" *J. Clin. Psychiatry* 60: 799-808 (1999).

Tian, W., et al., "Determinants of alpha-Adrenergic Receptor Activation of G protein: Evidence for a Precoupled Receptor/G protein State." *Molecular Pharmacology* 45: 524-553 (1994).

Underwood, D.J. et al., "Structural model of antagonist and

agonist binding to the angiotensin II, AT1 subtype, G protein coupled receptor", *Chem. Biol.* 1(4): 211-221 (1994).

Wade, P.D., et al., "Mammalian cerebral cortical tissue responds to low-intensity visible light" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 9322-9326 (1988).

Wood, S.F., et al., "Inositol triphosphate production in squid photoreceptors. Activation by light, aluminium fluoride, and guanine nucleotides" *J. Biol. Chem.* 264: 12970-12976 (1989).

Yarfitz, S., and Hurley, J.B., "Transduction mechanisms of vertebrate and invertebrate photoreceptors" *J. Biol. Chem.* 269: 14329-14332 (1994).

Yoshikawa, T., and Oishi, T., "Extraretinal photoreception and circadian systems in nonmammalian vertebrates" *Comp. Biochem. Physiol.* 119B: 65-72 (1998).

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Synaptic Pharmaceutical Corporation

<120> DNA Encoding SNORF36a and SNORF36b Receptors

<130> 59138-B-PCT/JPW

<140>

<141>

<150> 09/518,914

<151> 2000-03-03

<150> 09/303,593

<151> 1999-05-03

<160> 48

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1508

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

caactcagga tgaacctctc ttcggggcca agagtcccgc ccagcccaac ccaagagccc 60
agctgcatgg ccacctcagc accacctcagc tgggtgggaca gctcccagag cagcatctcc 120
agcctggggc ggettcctatc catcagtcoc acagcacctg ggacttgggc tgetgcctgg 180
gtccccctcc ccacggttga tgttccagac catgcccact atacctggg cacagtgatc 240
ttgctgggtg gactcacggg gatgctgggc aacctgacgg tcatctatac cttctgcagg 300
agcagaagcc tccggacacc tgccaacatg ttcattatca acctcgcggt cagcgacttc 360
ctcatgtcct tcacctcaggc ccctgtcttc ttcaccagta gcctctataa gcagtggctc 420
tttggggaga caggctgcga gttctatgcc ttctgtggag ctctctttgg catttctcc 480
atgatcacc ccacggccat cgcctcggac cgctacctgg taatcacacg cccgctggcc 540
acctttggtg tggcgtccaa gaggcgtgcy gcatttgtcc tgctgggctg ttggctctat 600
gcctcggcct ggagtctgcc acccttcttc ggctggagcg cctacgtgcc cgaggggttg 660
ctgacatcct gctcctggga ctacatgagc ttcacgcccg ccgtgcgtgc ctacaccatg 720
cttctctgct gcttctgtgt ttctctccct ctgcttatca tcatctactg ctacatcttc 780
atcttcaggg ccateccggga gacaggacgg gctctccaga cttcgggggc ctgcaagggc 840
aatggcgagt cctctgaggc gcggcagcgg ctgcagagcg agtgaagat ggccaagatc 900
atgctgctgg tcatcctcct cttcgtgctc tcttgggctc cctattccgc tgtggccctg 960
gtggcctttg ctgggtacgc acacgtcctg acaccctaca tgagctcggg gccagccctc 1020
atcgccaagg cctctgcaat ccacaacccc atcatttacg ccacaccca cccaagtac 1080
agggtggcca ttgcccagca cctgcctcgc ctgggggtgc tgetgggtgt atcacgccg 1140
cacagtggcc cctaccccag ctaccgctcc acccaccgct ccacgctgac cagccacacc 1200
tccaacctca gctggatctc catacggagg cgcacggagt ccctgggctc ggagagtgg 1260

```

gtgggctgga cacacatgga ggcagcagct gtgtggggag ctgccagca agcaaatggg 1320
 cggtcctct acggtcaggg tctggaggac ttggaagcca aggcaccccc cagaccccag 1380
 ggacacgaag cagagactcc agggaagacc aaggggctga tccccagcca ggaccccagg 1440
 atgtaggacg cccactggct ctccctttct tctgagacac atccagcccc cccacgtctc 1500
 cctcatat 1508

<210> 2

<211> 478

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asn Pro Pro Ser Gly Pro Arg Val Pro Pro Ser Pro Thr Gln Glu
 1 5 10 15
 Pro Ser Cys Met Ala Thr Pro Ala Pro Pro Ser Trp Trp Asp Ser Ser
 20 25 30
 Gln Ser Ser Ile Ser Ser Leu Gly Arg Leu Pro Ser Ile Ser Pro Thr
 35 40 45
 Ala Pro Gly Thr Trp Ala Ala Ala Trp Val Pro Leu Pro Thr Val Asp
 50 55 60
 Val Pro Asp His Ala His Tyr Thr Leu Gly Thr Val Ile Leu Leu Val
 65 70 75 80
 Gly Leu Thr Gly Met Leu Gly Asn Leu Thr Val Ile Tyr Thr Phe Cys
 85 90 95
 Arg Ser Arg Ser Leu Arg Thr Pro Ala Asn Met Phe Ile Ile Asn Leu
 100 105 110
 Ala Val Ser Asp Phe Leu Met Ser Phe Thr Gln Ala Pro Val Phe Phe
 115 120 125
 Thr Ser Ser Leu Tyr Lys Gln Trp Leu Phe Gly Glu Thr Gly Cys Glu
 130 135 140
 Phe Tyr Ala Phe Cys Gly Ala Leu Phe Gly Ile Ser Ser Met Ile Thr
 145 150 155 160
 Leu Thr Ala Ile Ala Leu Asp Arg Tyr Leu Val Ile Thr Arg Pro Leu
 165 170 175
 Ala Thr Phe Gly Val Ala Ser Lys Arg Arg Ala Ala Phe Val Leu Leu
 180 185 190

Gly Val Trp Leu Tyr Ala Leu Ala Trp Ser Leu Pro Pro Phe Phe Gly
 195 200 205

Trp Ser Ala Tyr Val Pro Glu Gly Leu Leu Thr Ser Cys Ser Trp Asp
 210 215 220

Tyr Met Ser Phe Thr Pro Ala Val Arg Ala Tyr Thr Met Leu Leu Cys
 225 230 235 240

Cys Phe Val Phe Phe Leu Pro Leu Leu Ile Ile Ile Tyr Cys Tyr Ile
 245 250 255

Phe Ile Phe Arg Ala Ile Arg Glu Thr Gly Arg Ala Leu Gln Thr Phe
 260 265 270

Gly Ala Cys Lys Gly Asn Gly Glu Ser Leu Trp Gln Arg Gln Arg Leu
 275 280 285

Gln Ser Glu Cys Lys Met Ala Lys Ile Met Leu Leu Val Ile Leu Leu
 290 295 300

Phe Val Leu Ser Trp Ala Pro Tyr Ser Ala Val Ala Leu Val Ala Phe
 305 310 315 320

Ala Gly Tyr Ala His Val Leu Thr Pro Tyr Met Ser Ser Val Pro Ala
 325 330 335

Val Ile Ala Lys Ala Ser Ala Ile His Asn Pro Ile Ile Tyr Ala Ile
 340 345 350

Thr His Pro Lys Tyr Arg Val Ala Ile Ala Gln His Leu Pro Cys Leu
 355 360 365

Gly Val Leu Leu Gly Val Ser Arg Arg His Ser Arg Pro Tyr Pro Ser
 370 375 380

Tyr Arg Ser Thr His Arg Ser Thr Leu Thr Ser His Thr Ser Asn Leu
 385 390 395 400

Ser Trp Ile Ser Ile Arg Arg Arg Gln Glu Ser Leu Gly Ser Glu Ser
 405 410 415

Glu Val Gly Trp Thr His Met Glu Ala Ala Ala Val Trp Gly Ala Ala
 420 425 430

Gln Gln Ala Asn Gly Arg Ser Leu Tyr Gly Gln Gly Leu Glu Asp Leu
 435 440 445

Glu Ala Lys Ala Pro Pro Arg Pro Gln Gly His Glu Ala Glu Thr Pro
 450 455 460

Gly Lys Thr Lys Gly Leu Ile Pro Ser Gln Asp Pro Arg Met
 465 470 475

<210> 3
 <211> 1541
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 caactcagga tgaacctcc ttcggggcca agagtccgc ccagccaac ccaagagccc 60
 agctgcatgg ccaccccagc accaccccagc tgggtgggaca gctcccagag cagcatctcc 120
 agcctggggcc ggcttccatc catcagtccc acagcacctg ggaacttgggc tgctgcctgg 180
 gtccccctcc ccacggttga tgttccagac catgcccact atacctggg cacagtgatc 240
 ttgctggtgg gactcacggg gatgctgggc aacctgacgg tcatctatac cttctgcaga 300
 gctgtgcttc gtggagtca tgtgatgatg cagagcagaa gcctccggac acctgccaac 360
 atgttcatta tcaacctcgc ggtcagcgc ttcctcatgt ccttcacca ggcccctgtc 420
 ttcttcacca gtagcctcta taagcagtgg ctctttgggg agacaggctg cgagttctat 480
 gccttctgtg gagctctctt tggcatttcc tccatgatca ccctgacggc catgcacctg 540
 gaccgctacc tggtaatcac acgcccgtcg gccaccttg gtgtggcgtc caagaggcgt 600
 gcggcatttg tcctgctggg cgtttggctc tatgccctgg cctggagtct gccacccttc 660
 ttcggctgga gcgcctacgt gcccgagggg ttgctgacat cctgctcctg ggactacatg 720
 agcttcacgc cggccctgcg tgccctacacc atgcttctct gctgcttcgt gttcttctc 780
 cctctgctta tcatcatcta ctgctacatc ttcattctca gggccatccg ggagacagga 840
 cgggctctcc agacctcgg ggcctgcaag ggcaatggcg agtccctgtg gcagcggcag 900
 cggctgcaga gcgagtgcaa gatggccaag atcatgctgc tggatcctc cctcttctgtg 960
 ctctcctggg ctccctatcc cgctgtggcc ctggtggcct ttgctgggta cgcacagtc 1020
 ctgacacctt acatgagctc ggtgccagcc gtcatcgcca aggcctctgc aatccacaac 1080
 cccatcattt acgccatcac ccacccaag tacagggtgg ccattgcca gcacctgcc 1140
 tgccctgggg tgctgctggg tgtatcacgc cggcacagtc gccctaccc cagctaccgc 1200
 tccacccacc gctccaogct gaccagccac acctccaacc tcagctggat ctccatacgg 1260
 aggcgccagg agtccctggg ctccggagagt gaggtgggct ggacacacat ggaggcagca 1320
 gctgtgtggg gagctgccc gcaagcaaat gggcgggtcc tctacggtea gggctctggag 1380
 gacttgaag ccaaggcacc ccccagacc caggacacg aagcagagac tccaggaag 1440
 accaaggggc tgatccccag ccaggacccc aggatgtagg acgcccactg gctctccctt 1500
 tcttctgaga cacatccagc cccccacgt ctccctcata t 1541

<210> 4
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Asn Pro Pro Ser Gly Pro Arg Val Pro Pro Ser Pro Thr Gln Glu
 1 5 10 15

Pro Ser Cys Met Ala Thr Pro Ala Pro Pro Ser Trp Trp Asp Ser Ser
 20 25 30

Gln Ser Ser Ile Ser Ser Leu Gly Arg Leu Pro Ser Ile Ser Pro Thr
 35 40 45

Ala Pro Gly Thr Trp Ala Ala Ala Trp Val Pro Leu Pro Thr Val Asp
 50 55 60

Val Pro Asp His Ala His Tyr Thr Leu Gly Thr Val Ile Leu Leu Val
 65 70 75 80

Gly Leu Thr Gly Met Leu Gly Asn Leu Thr Val Ile Tyr Thr Phe Cys
 85 90 95

Arg Ala Val Leu Arg Gly Val Thr Val Met Met Gln Ser Arg Ser Leu
 100 105 110

Arg Thr Pro Ala Asn Met Phe Ile Ile Asn Leu Ala Val Ser Asp Phe
 115 120 125

Leu Met Ser Phe Thr Gln Ala Pro Val Phe Phe Thr Ser Ser Leu Tyr
 130 135 140

Lys Gln Trp Leu Phe Gly Glu Thr Gly Cys Glu Phe Tyr Ala Phe Cys
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Phe Gly Ile Ser Ser Met Ile Thr Leu Thr Ala Ile Ala
 165 170 175

Leu Asp Arg Tyr Leu Val Ile Thr Arg Pro Leu Ala Thr Phe Gly Val
 180 185 190

Ala Ser Lys Arg Arg Ala Ala Phe Val Leu Leu Gly Val Trp Leu Tyr
 195 200 205

Ala Leu Ala Trp Ser Leu Pro Pro Phe Phe Gly Trp Ser Ala Tyr Val
 210 215 220

Pro Glu Gly Leu Leu Thr Ser Cys Ser Trp Asp Tyr Met Ser Phe Thr
 225 230 235 240

Pro Ala Val Arg Ala Tyr Thr Met Leu Leu Cys Cys Phe Val Phe Phe
 245 250 255

Leu Pro Leu Leu Ile Ile Ile Tyr Cys Tyr Ile Phe Ile Phe Arg Ala
 260 265 270

Ile Arg Glu Thr Gly Arg Ala Leu Gln Thr Phe Gly Ala Cys Lys Gly
 275 280 285

Asn Gly Glu Ser Leu Trp Gln Arg Gln Arg Leu Gln Ser Glu Cys Lys
 290 295 300

Met Ala Lys Ile Met Leu Leu Val Ile Leu Leu Phe Val Leu Ser Trp
 305 310 315 320

Ala Pro Tyr Ser Ala Val Ala Leu Val Ala Phe Ala Gly Tyr Ala His
 325 330 335

Val Leu Thr Pro Tyr Met Ser Ser Val Pro Ala Val Ile Ala Lys Ala
 340 345 350

Ser Ala Ile His Asn Pro Ile Ile Tyr Ala Ile Thr His Pro Lys Tyr
 355 360 365

Arg Val Ala Ile Ala Gln His Leu Pro Cys Leu Gly Val Leu Leu Gly
 370 375 380

Val Ser Arg Arg His Ser Arg Pro Tyr Pro Ser Tyr Arg Ser Thr His
 385 390 395 400

Arg Ser Thr Leu Thr Ser His Thr Ser Asn Leu Ser Trp Ile Ser Ile
 405 410 415

Arg Arg Arg Gln Glu Ser Leu Gly Ser Glu Ser Glu Val Gly Trp Thr
 420 425 430

His Met Glu Ala Ala Ala Val Trp Gly Ala Ala Gln Gln Ala Asn Gly
 435 440 445

Arg Ser Leu Tyr Gly Gln Gly Leu Glu Asp Leu Glu Ala Lys Ala Pro
 450 455 460

Pro Arg Pro Gln Gly His Glu Ala Glu Thr Pro Gly Lys Thr Lys Gly
 465 470 475 480

Leu Ile Pro Ser Gln Asp Pro Arg Met
 485

<210> 5

<211> 250

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 5

```

catagccatg gaccgctatc tggatgacac acgtccactg gccaccatcg gcatgagatc 60
caagagacgg acggcactag tctgctagg tgtctggctc tatgccctgg cctggagtct 120
gccgcctttc tttggctgga gcgcctacgt gcccgagggg ctgctgacat cctgctctctg 180
ggactacgtg accttcacgc cctctgtgcg gcctacacc atgctgctct tctgctttgt 240
cttcttctc                                     250

```

<210> 6

<211> 83

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 6

```

Ile Ala Met Asp Arg Tyr Leu Val Ile Thr Arg Pro Leu Ala Thr Ile
  1           5           10           15
Gly Met Arg Ser Lys Arg Arg Thr Ala Leu Val Leu Leu Gly Val Trp
           20           25           30
Leu Tyr Ala Leu Ala Trp Ser Leu Pro Pro Phe Phe Gly Trp Ser Ala
           35           40           45
Tyr Val Pro Glu Gly Leu Leu Thr Ser Cys Ser Trp Asp Tyr Val Thr
           50           55           60
Phe Thr Pro Leu Val Arg Ala Tyr Thr Met Leu Leu Phe Cys Phe Val
           65           70           75           80
Phe Phe Leu

```

<210> 7

<211> 1473

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 7

```

tttaagtctt ccaagagcct gagcatgaac tctccttcag aatcaagagt cccttcaagc 60
ttaactcagg atcccagctt taccgccagc cctgccctcc tacaaggcat ttggaacagc 120
actcagaaca tctccgtcag agtccagctt ctatccgtta gccccacgac acctgggctt 180
caggctgctg cctgggtccc ctccccaca gtcgacgtcc cagatcatgc tcaactatacc 240
ctaggcacgg tgatcctgct ggtgggactc acagggatgc tgggtaacct gacagtcac 300
tacaccttct gcaggaatag aggctgctg acaccggcaa acatgctcat catcaacctg 360

```

gcagtcagcg acttccttat gtcgttccact caggccccgg tcttctttgc cagcagcctc 420
 tacaagaagt ggctcttcgg ggagacaggt tgcaagttct atgccttctg tggggctgtc 480
 tttggcatcg tttccatgat caccctgaca gccatagcca tggaccgcta tctggtgatc 540
 acacgtccac tggccacat cggcatgaga tccaagagac ggacggcact agtcctgcta 600
 ggtgtctggc tctatgccct ggctggagt ctgccgcctt tctttggctg gagcgcctac 660
 gtgcccaggg ggctgctgac atcctgctcc tgggactacg tgaccttcac gccoctctg 720
 cgcgcctaca ccatgctgct cttctgcttt gtcttcttcc tccctctgct cattatcctc 780
 ttctgctaca tcttcatctt cagggccatt cgagagacag gccgggctg tgagggctgt 840
 ggtgagtcct ctctgctggc gcggcagtg cagcggctac agagtgaatg gaagatggcc 900
 aaggctgcac tgatcgtcat tctcctcttt gtgctgtcct gggctcccta ctccactgtg 960
 gccctgggtg gctttgctgg gtactgcac atcctgacgc cctacatgag ctcggtgcca 1020
 gccgtcattg ccaaggcctc ggccatccac aatcctatec tctatgccat cactcaccct 1080
 aagtacaggc cggccattgc tcagcacttg ccttgccctg ggggtcttct tggagtatca 1140
 ggccagcgca gccaccctc cctcagctac cgtctaccc atcgtccac actgagcagc 1200
 cagtcctcag acctcagctg gatctctggg cagaagcgcc aagagtccct gggttctgag 1260
 agtgaagtgg gctggacaga cacagaaaca acagctgctg ggggagctgc ccagcaagca 1320
 agtggacaat ccttctgacg tcatgacctg gaagatggag aagtaaggc tccttccagc 1380
 cccaggaac agaatccaa gactcccaag accaagagac acctccccag tctggaccga 1440
 aggatgtagg atgcccagtc ccgtcccctc cct 1473

<210> 8

<211> 474

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Met Asn Ser Pro Ser Glu Ser Arg Val Pro Ser Ser Leu Thr Gln Asp
 1 5 10 15
 Pro Ser Phe Thr Ala Ser Pro Ala Leu Leu Gln Gly Ile Trp Asn Ser
 20 25 30
 Thr Gln Asn Ile Ser Val Arg Val Gln Leu Leu Ser Val Ser Pro Thr
 35 40 45
 Thr Pro Gly Leu Gln Ala Ala Ala Trp Val Pro Phe Pro Thr Val Asp
 50 55 60
 Val Pro Asp His Ala His Tyr Thr Leu Gly Thr Val Ile Leu Leu Val
 65 70 75 80
 Gly Leu Thr Gly Met Leu Gly Asn Leu Thr Val Ile Tyr Thr Phe Cys
 85 90 95
 Arg Asn Arg Gly Leu Arg Thr Pro Ala Asn Met Leu Ile Ile Asn Leu
 100 105 110

Ala Val Ser Asp Phe Leu Met Ser Phe Thr Gln Ala Pro Val Phe Phe
115 120 125

Ala Ser Ser Leu Tyr Lys Lys Trp Leu Phe Gly Glu Thr Gly Cys Lys
130 135 140

Phe Tyr Ala Phe Cys Gly Ala Val Phe Gly Ile Val Ser Met Ile Thr
145 150 155 160

Leu Thr Ala Ile Ala Met Asp Arg Tyr Leu Val Ile Thr Arg Pro Leu
165 170 175

Ala Thr Ile Gly Met Arg Ser Lys Arg Arg Thr Ala Leu Val Leu Leu
180 185 190

Gly Val Trp Leu Tyr Ala Leu Ala Trp Ser Leu Pro Pro Phe Phe Gly
195 200 205

Trp Ser Ala Tyr Val Pro Glu Gly Leu Leu Thr Ser Cys Ser Trp Asp
210 215 220

Tyr Val Thr Phe Thr Pro Leu Val Arg Ala Tyr Thr Met Leu Leu Phe
225 230 235 240

Cys Phe Val Phe Phe Leu Pro Leu Leu Ile Ile Ile Phe Cys Tyr Ile
245 250 255

Phe Ile Phe Arg Ala Ile Arg Glu Thr Gly Arg Ala Cys Glu Gly Cys
260 265 270

Gly Glu Ser Pro Leu Arg Arg Arg Gln Trp Gln Arg Leu Gln Ser Glu
275 280 285

Trp Lys Met Ala Lys Val Ala Leu Ile Val Ile Leu Leu Phe Val Leu
290 295 300

Ser Trp Ala Pro Tyr Ser Thr Val Ala Leu Val Gly Phe Ala Gly Tyr
305 310 315 320

Ser His Ile Leu Thr Pro Tyr Met Ser Ser Val Pro Ala Val Ile Ala
325 330 335

Lys Ala Ser Ala Ile His Asn Pro Ile Ile Tyr Ala Ile Thr His Pro
340 345 350

Lys Tyr Arg Ala Ala Ile Ala Gln His Leu Pro Cys Leu Gly Val Leu
355 360 365

Leu Gly Val Ser Gly Gln Arg Ser His Pro Ser Leu Ser Tyr Arg Ser
 370 375 380
 Thr His Arg Ser Thr Leu Ser Ser Gln Ser Ser Asp Leu Ser Trp Ile
 385 390 395 400
 Ser Gly Gln Lys Arg Gln Glu Ser Leu Gly Ser Glu Ser Glu Val Gly
 405 410 415
 Trp Thr Asp Thr Glu Thr Thr Ala Ala Trp Gly Ala Ala Gln Gln Ala
 420 425 430
 Ser Gly Gln Ser Phe Cys Ser His Asp Leu Glu Asp Gly Glu Val Lys
 435 440 445
 Ala Pro Ser Ser Pro Gln Glu Gln Lys Ser Lys Thr Pro Lys Thr Lys
 450 455 460
 Arg His Leu Pro Ser Leu Asp Arg Arg Met
 465 470

<210> 9
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 9
 catgcgcctc gacgtgctgt gctgcacctc atccatcttg cacct 45

<210> 10
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 10
 catggacagg tcgcgctacc gcgtgtccac gttctaccta ctcca 45

<210> 11
 <211> 45

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 11
ggcatcatca tgggcacctt catcctctgc tggctgcctt tcttc 45

<210> 12
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 12
gcagaaggc agaacaagag ccacgatgaa gaagggcagc cagca 45

<210> 13
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 13
tggctgtcat cggacatcac ttgttgcaact gcctccatcc tgcac 45

<210> 14
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 14
gtagcgggtcc agggcgatga cacagaggtg caggatggag gcagt 45

<210> 15
<211> 27

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 15
ccagccgaag aagggtggca gactcca 27

<210> 16
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 16
cttctaggcc tgtacggaag tgtta 25

<210> 17
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 17
gcacaggctg cgagttctat tcctt 25

<210> 18
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 18
ctggtaatca cacaccgct ggccacctt ggtgtggcgt ccaag 45

<210> 19
<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 19
 agatcatgct gctggtcac cctcc 24

 <210> 20
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 20
 tcgtgctctc ctgggctccc t 21

 <210> 21
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 21
 tcctccatga tcaccctgac ggc 23

 <210> 22
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 22
 tctggagagc ccgtcctgtc tcc 23

 <210> 23
 <211> 48

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 23
 cggccgtgcg tgcctacacc atgcttctct gctgcttcgt gttcttcc 48

 <210> 24
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 24
 ttggacgcca caccaaaggt ggcc 24

 <210> 25
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 25
 ggtatagatg accgtcaggt tgcc 24

 <210> 26
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 26
 cgaacaggat cctctctgtg ggctcgagca aggacc 36

 <210> 27
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 27
 acgtgtgcgt acccagcaaa ggcc 24

 <210> 28
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 28
 gtcccacagc acctgggact tgggctgc 28

 <210> 29
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 29
 gcagcccaag tcccaggtgc tgtgggac 28

 <210> 30
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 30
 ggcaacctga cggtcaccta tacc 24

 <210> 31
 <211> 35

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 31
 cagcataagc ttccagtggg cgtcctacat cctgg 35

 <210> 32
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 32
 cagtagatga tgataagcag agg 23

 <210> 33
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 33
 cgaacaggat cccatagcca tggaccgcta tctgg 35

 <210> 34
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 34
 cctagcaagc ttgaggaaga agacaaagca gaagagc 37

 <210> 35
 <211> 48

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 35
 cggacggcac tagtctgtct aggtgtctgg ctctatgcc tggcctgg 48

 <210> 36
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 36
 ggctgagagt tctatgcctt 20

 <210> 37
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 37
 ttaccaggta gcggtccagg 20

 <210> 38
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

 <400> 38
 agctctcttt ggcatttcct ccatgatca 29

 <210> 39
 <211> 18

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 39
ctgggcaacc tgacggtc 18

<210> 40
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 40
caggtgtccg gaggcttct 19

<210> 41
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 41
tgtgcttcgt ggagtcactg tgatgat 27

<210> 42
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 42
tccactggcc accatcg 17

<210> 43
<211> 22

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 43
gggcatagag ccagacacct ag 22

<210> 44
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 44
catgagatcc aagagacgga cggca 25

<210> 45
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 45
tcctccatga tcaccctgac ggc 23

<210> 46
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 46
tctggagagc cctcctgtc tcc 23

<210> 47
<211> 24

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 47
ggcaacctga cggtcaccta tacc
24

<210> 48
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer/probe

<400> 48
ttggacgcca caccaaaggt ggcc
24

```

【図面の簡単な説明】

【図1A】

図1Aは、ヒトSNORF36a受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：1）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1444～1446）の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図1B】

図1Bは、ヒトSNORF36a受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：1）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1444～1446）の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図1C】

図1Cは、ヒトSNORF36a受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：1）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1444～1446）

の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図2A】

図2Aは、図1A～1Cで示したヌクレオチド配列（配列番号：1）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたヒトSNORF36a受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：2）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図2B】

図2Bは、図1A～1Cで示したヌクレオチド配列（配列番号：1）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたヒトSNORF36a受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：2）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図3A】

図3Aは、ヒトSNORF36b受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：3）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1477～1479）の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図3B】

図3Bは、ヒトSNORF36b受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：3）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1477～1479）の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

図3Cは、ヒトSNORF36b受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列（配列番号：3）。最も短いオープンリーディングフレームを含む予想されるオープンリーディングフレームは2つの開始（ATG）コード化（位置10～12および67～69）および終止コドン（位置1477～1479）の下線によって示される。さらに部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図4A】

図4 Aは、図3 A～3 Cで示したヌクレオチド配列（配列番号：3）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたヒトSNORF 36 b受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：4）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図4 B】

図4 Bは、図3 A～3 Cで示したヌクレオチド配列（配列番号：3）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたヒトSNORF 36 b受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：4）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図4 C】

図4 Cは、図3 A～3 Cで示したヌクレオチド配列（配列番号：3）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたヒトSNORF 36 b受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：4）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図5】

図5は、ラットSNORF 36受容体をコード化している配列の部分を含むヌクレオチド配列（配列番号：5）。

【図6】

図6は、図5で示したヌクレオチド配列（配列番号：5）によってコード化されたラットSNORF 36受容体の予想部分アミノ酸配列（配列番号：6）。推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図7 A】

図7 Aは、ヒトSNORF 36とラットSNORF 36の部分配列のヌクレオチドアライメント。垂直線は同一の残基を示している。

【図7 B】

図7 Bは、ヒトSNORF 36とラットSNORF 36の部分配列のヌクレオチドアライメント。垂直線は同一の残基を示している。

【図8】

図8は、ヒトSNORF 36とラットSNORF 36の部分配列のアミノ酸ア

ライメント。垂直線は同一の残基を示し、ドットは類似の残基を示している。

【図9A】

図9Aは、ラットSNORF36受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列(配列番号:7)。最も短いオープンリーディングフレームを含む推定オープンリーディングフレームは、1つの開始(ATG)コード化(位置25-27)および終止コドン(位置1447-1779)の下線によって示される。さらに、部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図9B】

図9Bは、ラットSNORF36受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列(配列番号:7)。最も短いオープンリーディングフレームを含む推定オープンリーディングフレームは、1つの開始(ATG)コード化(位置25-27)および終止コドン(位置1447-1779)の下線によって示される。さらに、部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図9C】

図9Cは、ラットSNORF36受容体をコード化している配列を含むヌクレオチド配列(配列番号:7)。最も短いオープンリーディングフレームを含む推定オープンリーディングフレームは、1つの開始(ATG)コード化(位置25-27)および終止コドン(位置1447-1779)の下線によって示される。さらに、部分的5'および3'非翻訳配列を示す。

【図10A】

図10Aは、図9A~9Bで示したヌクレオチド配列(配列番号:7)で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたラットSNORF36受容体の予想されるアミノ酸配列(配列番号:8)。7つの推定される膜貫通(TM)領域に下線を引く。

【図10B】

図10Bは、図9A~9Bで示したヌクレオチド配列(配列番号:7)で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたラットSNORF36受容体の予想されるアミノ酸配列(配列番号:8)。7つの推定される膜貫通(TM)領域に下線を引く。

【図10C】

図10Cは、図9A～9Bで示したヌクレオチド配列（配列番号：7）で示した最も長いオープンリーディングフレームによってコード化されたラットSNORF36受容体の予想されるアミノ酸配列（配列番号：8）。7つの推定される膜貫通（TM）領域に下線を引く。

【図11A】

図11Aは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のヌクレオチドアライメント。垂直線は保存された残基残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図11B】

図11Bは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のヌクレオチドアライメント。垂直線は保存された残基残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図11C】

図11Cは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のヌクレオチドアライメント。垂直線は保存された残基残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図11D】

図11Dは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のヌクレオチドアライメント。垂直線は保存された残基残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図12A】

図12Aは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のアミノ酸アライメント。垂直線は保存された残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図12B】

図12Bは、ヒトおよびラットSNORF36受容体のアミノ酸アライメント。垂直線は保存された残基を示し、ドットはアライメント中のギャップを示している。

【図13A】

図13Aは、(1)ランプ光に曝露しない(図13A)か、または(2)実験前に90分間ランプ光に曝露した(図13B)かどちらかのヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞での基準Ca²⁺流動応答。応答は蛍光画像装置プレートリーダー(FLI PR™)を使用して測定した。細胞を、0時点で開始し、それぞれのトレースの終わりまで、1秒間の間隔でレーザー光に曝露した。最初の蛍光値をすべての蛍光値より引いた。トレースの間中は何の薬物も加えなかった。

【図13B】

図13Bは、(1)ランプ光に曝露しない(図13A)か、または(2)実験前に90分間ランプ光に曝露した(図13B)かどちらかのヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞での基準Ca²⁺流動応答。応答は蛍光画像装置プレートリーダー(FLI PR™)を使用して測定した。細胞を、0時点で開始し、それぞれのトレースの終わりまで、1秒間の間隔でレーザー光に曝露した。最初の蛍光値をすべての蛍光値より引いた。トレースの間中は何の薬物も加えなかった。

【図14A】

図14Aは、(1)ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞(図14A)、および(2)空ベクター-トランスフェクトCos-7細胞(図14B)での細胞内Ca²⁺における、全-trans-レチナール(10μM)の効果を示している代表的なトレース。応答は蛍光画像装置プレートリーダー(FLI PR™)を使用して測定した。全-trans-レチナールを、矢印で示した時点で添加した。基準線控除および陰性対照補正をトレース上で実施した。

【図14B】

図14Bは、(1)ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞(図14A)、および(2)空ベクター-トランスフェクトCos-7細胞(図14B)での細胞内Ca²⁺における、全-trans-レチナール(10μM)の効果を示している代表的なトレース。応答は蛍光画像装置プレートリーダー

(FLIPR™)を使用して測定した。全-trans-レチナールを、矢印で示した時点で添加した。基準線控除および陰性対照補正をトレース上で実施した。

【図15A】

図15Aは、ヒトSNORF36a-トランスフェクト(1)Cos-7細胞(n=3)(図15A)、および(2)HEK293細胞(n=1)(図15B)での細胞Ca²⁺におけるレチナール類似体の濃度依存的効果。データは、平均値±SDとして示している。

【図15B】

図15Bは、ヒトSNORF36a-トランスフェクト(1)Cos-7細胞(n=3)(図15A)、および(2)HEK293細胞(n=1)(図15B)での細胞Ca²⁺におけるレチナール類似体の濃度依存的効果。データは、平均値±SDとして示している。

【図16A】

図16Aは、(1)ランプ光に曝露した(n=2)(図16A)か、またはランプ光に曝露しない(n=1)(図16B)かどちらかの、ヒトSNOSF36a-および空ベクター-トランスフェクトCos-7細胞での、リン酸ニノシチド加水分解における全-trans-レチナールの濃度依存的効果。

【図16B】

図16Bは、(1)ランプ光に曝露した(n=2)(図16A)か、またはランプ光に曝露しない(n=1)(図16B)かどちらかの、ヒトSNOSF36a-および空ベクター-トランスフェクトCos-7細胞での、リン酸ニノシチド加水分解における全-trans-レチナールの濃度依存的効果。

【図17A】

図17Aは、ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞(n=2)での全-trans-レチナール誘導細胞内Ca²⁺流動の -イオン(10μM)による拮抗作用(図17A)。ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞(n=2)での9-シス-レチナール誘導細胞内Ca²⁺流動の -イオン(10μM)による拮抗作用(図17B)。応答は蛍光画像装

置プレートリーダー (FLIPR™) を使用して測定した。データは、平均値 \pm SDとして示している。

【図17B】

図17Bは、ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞 (n = 2) での全-trans-レチナール誘導細胞内Ca²⁺流動の -イオン (10 μ M) による拮抗作用 (図17A)。ヒトSNORF36a-トランスフェクトCos-7細胞 (n = 2) での9-Sis-レチナール誘導細胞内Ca²⁺流動の -イオン (10 μ M) による拮抗作用 (図17B)。応答は蛍光画像装置プレートリーダー (FLIPR™) を使用して測定した。データは、平均値 \pm SDとして示している。

【図18A】

図18A~18Cは、卵母細胞に発現したSNORF36aの光感受性。図18Aおよび図18Bに示した卵母細胞に、10 ngのSNORF36a合成mRNAを注入した。電流はnA (ナノアンペア) で表し、一方時間はs (秒) で表している。

図18Aは、SNORF36aを発現している電圧クランプ卵母細胞中の、光曝露 (棒) によって誘発された電流。卵母細胞は、24時間、暗所にて全-trans-レチナール (100 nM) で前処理した。

【図18B】

図18A~18Cは、卵母細胞に発現したSNORF36aの光感受性。図18Aおよび図18Bに示した卵母細胞に、10 ngのSNORF36a合成mRNAを注入した。電流はnA (ナノアンペア) で表し、一方時間はs (秒) で表している。

図18Bは、先に室内光に曝露した全-trans-レチナールで前処理した第二の卵母細胞の応答。

【図18C】

図18A~18Cは、卵母細胞に発現したSNORF36aの光感受性。図18Aおよび図18Bに示した卵母細胞に、10 ngのSNORF36a合成mRNAを注入した。電流はnA (ナノアンペア) で表し、一方時間はs (秒) で表

している。

図18Cは、24時間、全-trans-レチナール(100nM)で前処理した、対照非注入卵母細胞は光に対して応答しなかった。


【図19】

図19は、全-trans-レチナール、13-シス-レチナールおよびATRA(全-transレチノイン酸)で前処理したSNORF36を発現している卵母細胞の光感受性のまとめ。括弧内の番号は、使用した卵母細胞の数である


。

【図 1 A】

1 CAACTCAGGATGAACCCCTCCTTCGGGGCCAAGAGTCCCGCCAGCCCAACCCAAAGAGCCC 60
 61 AGCTGCATGGCCACCCAGCACCCAGCCAGCTGGTGGACAGCTCCAGAGCAGCATCTCC 120
 121 AGCCTGGGCCGGCTTCCATCCATCAGTCCACAGCACCTGGGACTTGGGCTGCTGCCCTGG 180
 181 GTCCCCCTCCCCACGGTTGA.GTTCCAGACCAATGCCCACTATACCCCTGGGCCACAGTGATC 240
 241 TTGCTGGTGGACTACGGGGATGCTGGCAACCTGACGGTCACTATACCTTCTGCAGG 300
 301 AGCAGAAGCCCTCCGGACACCTGCCAACATGTTCAATTATCAACCTCGCGGTACGGACTTC 360
 361 CTCATGTCCCTTCACCCAGGCCCTGTCTTCTTCACCAGTAGCCCTCTATAAGCAGTGGCTC 420
 421 TTTGGGGAGACAGGCTGCGAGTTCATGCCCTTCTGTGGAGCTCTCTTTGGCATTTCCCTCC 480
 481 ATGATCACCCCTGACGGCCATCGCCCTGGACCCTACCTGGTAATCACACGCCCGCTGGCC 540
 541 ACCTTTGGTGTGGCGTCCAAGAGCGGTGCGGCATTTGTCCCTGCTGGGCGTTTGGCTCTAT 600
 601 GCCCTGGCCCTGGAGTCTGCCACCCTTCTTCGGCTGGAGCGCCCTACGTGCCCGAGGGGTG 660
 661 CTGACATCCTGCTCCTGGGACTACATGAGCTTCACGCCCGCGGTGCGTGCCTACACCATG 720


【 1 B】

721 CTTCTGCTGCTTCCGTGTTCTTCCCTCCCTCTGCTTATCATCATCTACTGCTACATCTTC 780
 781 ATCTTCAGGGCCATCCGGAGACAGGACGGCTCTCCAGACCTTCGGGGCTGCAAGGGC 840
 841 AATGGCAGAGTCCCCTGTGGCAGCGGCGGCTGCAGAGCGAGTGCAAGATGGCCAAGATC 900
 901 ATGCTGCTGGTCAATCCTCCTTCTGCTCTCCTGGCTCCCTATTCCGCTGTGGCCCTG 960
 961 GTGGCCCTTTGCTGGGTACGCACACAGTCCCTGACACCCCTACATGAGCTCGGTGCCAGCCGTC 1020
 1021 ATCGCCAAAGCCCTCGCAATCCACAACCCCATATTACGCCATCACCCACCCCAAGTAC 1080
 1081 AGGGTGGCCATTGCCCAAGCACCTGCCCTGCCCTGGGGTGTGCTGGGTGTATCACGCCGG 1140
 1141 CACAGTCGCCCTACCCAGCTACCCGCTCCACCCACCCGCTCCACGCTGACCAGCCACACC 1200
 1201 TCCAACCTCAGCTGGATCTCCATACGGAGGCGCCAGGAGTCCCTGGGCTCGGAGAGTGAG 1260
 1261 GTGGGCTGGACACACATGGAGGCAGCAGCTGTGTGGGAGCTGCCCAAGCAAAATGGG 1320
 1321 CGGTCCCTCTACGGTCAAGGTCTGGAGGACTTGGAAAGCCAAGGCACCCCCAGACCCCCAG 1380
 1381 GGACACGAAGCAGAGACTCCAGGGAAGACCAAGGGGCTGATCCCCAGCCAGGACCCCCAGG 1440


【 1 C】

1441 ATGTAGGACGCCCACTGGCTCTCCCTTTCCTGAGACACATCCAGCCCCCCCCACGTCTC 1500

1501 CCTCATAT 1508

【 2A】

1 M N P P S G P R V P P S P T Q E P S C M 20
 21 A T P A P P S W W D S S Q S S I S S L G 40
 41 R L P S I S P T A P G T W A A W V P L 60
 61 P T V D V P D H A H Y T L G T V I L L V 80
 81 G L T G M L G N L T V I Y T F C R S R S 100
 101 L R T P A N M F I I N L A V S D F L M S 120
 121 F T Q A P V F F T S S L Y K Q W L F G E 140
 141 T G C E F Y A F C G A L F G I S S M I T 160
 161 L T A I A L D R Y L V I T R P L A T F G 180
 181 V A S K R R A A F V L L G V W L Y A L A 200
 201 W S L P P F E G W S A Y V P E G L L T S 220
 221 C S W D Y M S F T P A V R A Y T M L L C 240

【 2 B】

241 C F V F F L P L L I I I Y C Y I F I F R 260

261 A I R E T G R A L Q T F G A C K G N G E 280

281 S L W Q R Q R L Q S E C K M A K I M L L 300

301 V I L L F V L S W A P Y S A V A L V A F 320

321 A G Y A H V L T P Y M S S V P A V I A K 340

341 A S A I H N P I I Y A I T H P K Y B V A 360

361 I A Q H L P C L G V L L G V S R R H S R 380


381 P Y P S Y R S T H R S T L T S H T S N L 400

401 S W I S I R R R Q E S L G S E S E V G W 420


421 T H M E A A A V W G A A Q Q A N G R S L 440

441 Y G Q G L E D L E A K A P P R P Q G H E 460


461 A E T P G K T K G L I P S Q D P R M 478

【 3 A】

1 CAACTCAGGATGAACCTCCTTCGGGGCCAAGAGTCCCGCCAGCCCAACCCAAAGAGCCC 60
61 AGCTGCATGGCCACCCAGCACCCAGCTGGTGGACAGCTCCAGAGCAGCATCTCC 120
121 AGCCTGGGCCGGCTTCCATCCATCAGTCCACAGCACCTGGGACTTGGGCTGCTGCCCTGG 180
181 GTCCCCCTCCCCACGGTTGATGTTCCAGACCATGCCCACTATACCCCTGGGCACAGTGATC 240
241 TTGCTGGTGGACTCACGGGATGCTGGGCAACC TGACGGTCACTATACCTTCTGCAGA 300
301 GCTGTGCTTCGTGGAGTCACTGTGATGATGCAGAGCAGAAGCCTCCGGACACCTGCCAAC 360
361 ATGTTCAATTATCAACCTCGCGGTGACGGACTTCCCTCATGTCCCTTACCCAGGCCCTGTC 420
421 TTCTTCACCAGTAGCCCTCATAAGCAGTGGCTTTGGGGAGACAGGCTGCGAGTCTCTAT 480
481 GCCTTCGTGGAGCTCTCTTTGGCATTTCCCTCCATGATCACCCCTGACGGCCATCGCCCTG 540
541 GACCCGTACCTGGTAATCACACGCCCGCTGGCCACCCTTTGGTGTGGCGTCCAAGAGGCGT 600
601 GCGGCATTTGTCCGTGCTGGGCGTTTGGCTCTATGCCCTGGCCCTGGAGTCTGCCACCCCTC 660
661 TTCGGCTGGAGGCCCTACGTGCCCGAGGGGTTGCTGACATCCTGCTCCCTGGGACTACATG 720


【 3 B】

721 AGCTTCACGGCCGGTGGTGCCCTACACCATGCTTCTCTGCTGCTTTCGGTGTTCCTCCTC 780
 781 CCTCTGCTTATCATCATCTACTGCTACATCTTTCATCTTCAGGGCCATCCGGGAGACAGGA 840
 841 CGGGCTCTCCAGACCCTTCGGGGCCGTGCAAGGCCAATGGCGAGTCCCTGTGGCAGCGGCAG 900
 901 CGGCTGCAGAGCGAGTGCAAGATGGCCCAAGATCATGCTGCTGGTCAATCCCTCCTTTCGTG 960
 961 CTCCTCCGGCTCCCTATTCGGCTGTGGCCCTGGTGGCCCTTTCCTGGGTACGCACACGTC 1020
 1021 CTGACACCCTACATGAGTCCGGTGCCAGCCGTCAATCGCCAAGGCCCTCTGCAATCCACAAC 1080
 1081 CCCATCATTTACGCCATCACCCACCCCAAGTACAGGGTGGCCATTGCCCCAGCACCTGCCC 1140
 1141 TGCCTGGGGGTGCTGCTGGGTGTATCACGCCCGGCACAGTCGCCCCCTACCCCCAGCTACC 1200
 1201 TCCACCCACCGCTCCACGCTGACCAGCCACACCTCCAACCTCAGCTGGATCTCCATACGG 1260
 1261 AGCGCCAGGAGTCCCTGGGCTCGGAGAGTGAGGTGGGCTGGACACACATGGAGGCAGCA 1320
 1321 GCTGTGTGGGAGCTGCCAGCAAGCAATGGCGGTCCCTCTACGGTACGGGTCTGGAG 1380
 1381 GACTTGGAAGCCAAGGCACCCCCAGACCCCCAGGACACGGAAGCAGAGACTCCAGGGAAG 1440


【 3 C】

1441 ACCAAGGGCTGATCCCCAGCCAGGACCCAGGATGTAGGACGCCACTGGCTCTCCCTT 1500

1501 TCTTCTGAGACACATCCAGCCCCCAGTCTCCCTCATAT 1541

【 4 A】

1 M N P P S G P R V P P S P T Q E P S C M 20
 21 A T P A P P S W D S S Q S S I S S L G 40
 41 R L P S I S P T A P G T W A A A W V P L 60
 61 P T V D V P D H A H Y T L G T V I L L V 80
 81 G L T G M L G N L T V I Y T F C R A V L 100
 101 R G V T V M M Q S R S L R T P A N M F I 120
 121 I N L A V S D F L M S F T O A P V F F T 140
 141 S S L Y K Q W L F G E T G C E F Y A F C 160
 161 G A L F G I S S M I T L T A I A L D R Y 180
 181 L V I T R P L A T F G V A S K R R A A F 200
 201 V L L G V W L Y A L A W S L P P F F G W 220
 221 S A Y V P E G L L T S C S W D Y M S F T 240

【 4 B】

241 P A V R A Y T M L L C C F V F F L P L L 260

261 I I Y C Y I F I F R A I R E T G R A L 280

281 Q T F G A C K G N G E S L W Q R Q R L Q 300

301 S E C K M A K I M L L V I L L F V L S W 320

321 A P Y S A V A L V A F A G Y A H V L T P 340

341 Y M S S V P A V I A K A S A I H N P I I 360

361 Y A I T H P K Y R V A I A Q H L P C L G 380

381 V L L G V S R R H S R P Y P S Y R S T H 400

401 R S T L T S H T S N L S W I S I R R R Q 420

421 E S L G S E S E V G W T H M E A A V W 440

441 G A A Q Q A N G R S L Y G Q G L E D L E 460

461 A K A P P R P Q G H E A E T P G K T K G 480

【図4C】

489

481 L I P S Q D P R M

【 5 】

1 CATAGCCATGGACCGCTATCTGGTGATCACACCGTCCACTGGCCACCATTGGCCATGAGATC 60
61 CAAGAGACGGACGGCACTAGTCCCTGCTAGGTGTCTGGCTCTATGCCCTGGCCCTGGAGTCT 120
121 GCCGCCTTTCTTTGGCTGGAGCGCCCTACGTGCCCGAGGGCTGCTGACATCCTGCTCCTG 180
181 GGACTACGTGACCTTACGCCCCCTCGTGGCGCCATACACCATTGCTGCTTCTGCTTTGT 240
241 CTTCCTCCCTC 250

(176)

特表 2003-510013

1	<u>I A M D</u>	R Y L V I T R P L A T I G M R S	20
21	K R R T	<u>A L V L L G V W L Y A L A W S L</u>	40
41	<u>P P F F</u>	G W S A Y V P E G L L T S C S W	60
61	D Y V T	<u>F T P L V R A Y T M L L F C F V</u>	80
81	<u>F F L</u>		83

【図7A】

出願時に提供されず

【 7 B 】

```
Rat SNORF36 163 GCTGACATCCTGCTCCTGGACTACGTGACCTTCACGCCCTCGTGCGCG 212
|||||
Hum SNORF36 651 GCTGACATCCTGCTCCTGGACTACATGAGCTTCACGCCGGCGTGCGGTG 700


Rat SNORF36 213 CCTACACCATGCTGCTCTTCTGCTTTGCTTCTTCCCTC..... 250
|||||
Hum SNORF36 701 CCTACACCATGCTTCTCTGCTGCTTCGGTTCCTCCCTCTGCTTATC 750
```

Rat SNORF36 1IAMDRYLVI TRPLATIGMR SKRRRTALVLLGVWLYALA 37
 ||:||||||||| |. |||| | |||||||||
 Hum SNORF36 151 ALFGISSMITLTAIALDRYLVI TRPLATFGVASKRRAAFVLLGVWLYALA 200

Rat SNORF36 38 WSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWDYVTFPLVRAYTMLLFCFVFFL... 83
 ||||||||||| |. |||| | |||||||||
 Hum SNORF36 201 WSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWDYMSFTPAVRAYTMLLCCFVFFLPLLI 250

1 TTTAAGTCCCTCCAAGAGCCTGAGCATGAACTCTCCTTCAGAAATCAAGAGTCCCTTCAAGC 60
61 TTAACTCAGGATCCCAGCTTTACCGCCAGCCCTGCCCTCCCTACAAGGCA^{TT}TGGAACAGC 120
121 ACTCAGAACATCTCCGTCAGAGTCCAGCTTCTATCCGTTAGCCCCACGACACCTGGGCTT 180
181 CAGGCTGCTGCCGTGGTCCCCTTCCCCACAGTCGACGTC^{CC}CAGATCATGCTCACTATACC 240
241 CTAGGCACGGTGATCCTGCTGGTGGGACTCACAGGGATGCTGGGTAACCTGACAGTCATC 300
301 TACACCTTCTGCAGGAATAGAGGCCCTGGGGACACCCGGCAACATGCTCATCAACCTG 360
361 GCAGTCAGCGACTTCCCTTATGTCTGTTCACTCAGGCCCCCGGTCTTCTTTGCCAGCAGCCTC 420
421 TACAAGAAGTGGCTCTTCGGGGACACAGGTTGCAAGTTCATGCCTTCTGTGGGGCTGTC 480
481 TTTGGCATCGT^{TT}TCCATGATCACCCCTGACAGCCATAGCCATGGACCCGCTATCTGGTGATC 540
541 ACACGTCCACTGGCCACCATCGGCATGAGATCCAAGAGACGGACGGCACTAGTCCCTGCTA 600
601 GGTGTCGGCTCTATGCCCTGGCCCTGGAGTCTGCCGCC^{TT}TCTTTGGCTGGAGCGCCCTAC 660


661 GTGCCCGAGGGGCTGCTGACATCCTGCTCCCTGGACTACGTGACCTTCACGCCCTCGTG 720
 721 CGGGCCACACCATGCTGCTCTTCTGCTTTGCTTTCTTCCCTCCTGCTCATTAATCATC 780
 781 TTCCTGCTACATCTTTCATCTTCAAGGCCAATTCGAGAGACAGGCCGGCCCTGTGAGGGCTGT 840
 841 GGTGAGTCCCCCTCTGCGGGCGGCGGAGTGCCAGCGGCTACAGAGTGAATGGAAGATGGCC 900
 901 AAGGTCCACTGATCGTCAATCTCCCTCTTTGTGCTGTCCCTGGGCTCCCTACTCCACTGTG 960
 961 GCCCTGGTGGGCTTTGCTGGGTACTCGCACATCCTGACGCCCTACATGAGCTCGGTGCCA 1020
 1021 GCCGTCAATTGCCAAGGCCTCGGCCATCCACAATCCATATCATATGCCATCACTCACCCC 1080
 1081 AAGTACAGGGCGGCCATTGCTCAGCACTTGCCTTGCCTTGGGGTGCTTCTTGGAGTATCA 1140
 1141 GGCCAGCGCAGCCACCCCTCCCTCAGCTACCGCTCACCCTCCACACTGAGCAGC 1200
 1201 CAGTCCTCAGACCTCAGCTGGATCTCTGGGCAGAAGCGCCAAAGAGTCCCCTGGGTTCTGAG 1260
 1261 AGTGAAGTGGCTGGACAGACACAGAAACAACAGCTGCCGTGGGGAGCTGCCCAGCAAGCA 1320

【 9 C】

(183)


特表 2003-510013

1321 AGTGGACAATCCTTCTGCAGTCATGACCTGGAAGATGGAGAAGTCAAGGCTCCTTCCAGC 1380
1381 CCCCAGGAACAGAAAATCCAAGACTCCCAGACCAAGAGACACCTCCCCAGTCTGGACCGA 1440
1441 AGGATGTAGGATGCCCCAGTCCCGTCCCCTCCCT 1473

【 10A】

1 M N S P S E S R V P S S L T Q D P S F T 20
 21 A S P A L L Q G I W N S T Q N I S V R V 40
 41 Q L L S V S P T T P G L Q A A W V P F 60
 61 P T V D V P D H A H Y T L G T V I L L V 80
 81 G L T G M L G N L T V I Y T F C R N R G 100
 101 L R T P A N M L I I N L A V S D F L M S 120
 121 F T Q A P V F F A S S L Y K K W L F G E 140
 141 T G C K F Y A F C G A V F G I V S M I T 160
 161 L T A I A M D R Y L V I T R P L A T I G 180
 181 M R S K R R T A L V L L G V W L Y A L A 200
 201 W S L P P F F G W S A Y V P E G L L T S 220

221 C S W D Y V T F T P L V R A Y T M L L F 240
 241 C F V F L P L I I I F C Y I F I F R 260
 261 A I R E T G R A C E G C G E S P L R R R 280
 281 Q W Q R L Q S E W K M A K V A L I V I L 300
 301 L F V L S W A P Y S T V A L V G F A G Y 320
 321 S H I L T P Y M S S V P A V I A K A S A 340
 341 I H N P I I Y A I T H P K Y R A A I A Q 360
 361 H L P C L G V L L G V S G Q R S H P S L 380
 381 S Y R S T H R S T L S S Q S S D L S W I 400
 401 S G Q K R Q E S L G S E S E V G W T D T 420
 421 E T T A A W G A A Q Q A S G Q S F C S H 440

【 10C】

441	D	L	E	D	G	E	V	K	A	P	S	S	P	Q	E	Q	K	S	K	T	460
461	P	K	T	K	R	H	L	P	S	L	D	R	R	M							474

【図 11A】

hSNORF36a 1 ATGAACCCCTCCTTCGGGGCCCAAGAGTCCCGCCAGCCCAACCCCAAGAGCC 50
 ||||| ||||| | ||||| ||||| | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 1 ATGAACCTCCTTCAGAAATCAAGAGTCCCTTCAAGCTTAACTCAGGATCC 50
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 51 CAGCTGCATGGCCACCCAGCACCCAGCTGGTGGGACAGCTCCCGAGA 100
 ||||| | ||||| ||||| ||||| | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 51 CAGCTTACCAGCCAGCCCTGCCCTCCTACAAGGCCATTGGAAACAGCACTC 100
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 101 GCAGCATCTCCAGCCTGGGCCGGCTTCCATCCATCAGTCCACAGCACCT 150
 | ||||| | | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 101 AGAACATCTCCGTCAGACTCCAGCTTCTATCCGTTAGCCCCACGACACCT 150
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 151 GGGACTTGGGCTGCTGCCTGGTCCCTCCCTCCACCGGTTGATGTCCAGA 200
 ||| | ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 151 GGGCTTCAGGCTGCTGCCTGGTCCCTTCCCCACAGTCGACGTCGCCAGA 200
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 201 CCATGCCCACTATAACCTGGGCACAGTGAATCTTGCTGGTGGACTCACGG 250
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 201 TCATGCTCACTATAACCTAGGCACGGTGAATCTGCTGGTGGACTCACAG 250
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 251 GGATGCTGGGCAACCTGACGGTCACTATACCTTCTGCAGGAGCAGAAGC 300
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

rSNORF36 251 GGATGCTGGGTAACCTGACAGTCACTACACCTTCTGCAGGAATAGAGGC 300
 ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||

hSNORF36a 301 CTCCGGACACCTGCCAACAATGTTCAATTAACAACCTCGCGGTACGCGACTT 350
 || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || |||||

rSNORF36 301 CTGCGACACCCGGCAACAATGCTCATCACTCAACCTGGCAGTACGCGACTT 350
 || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || |||||

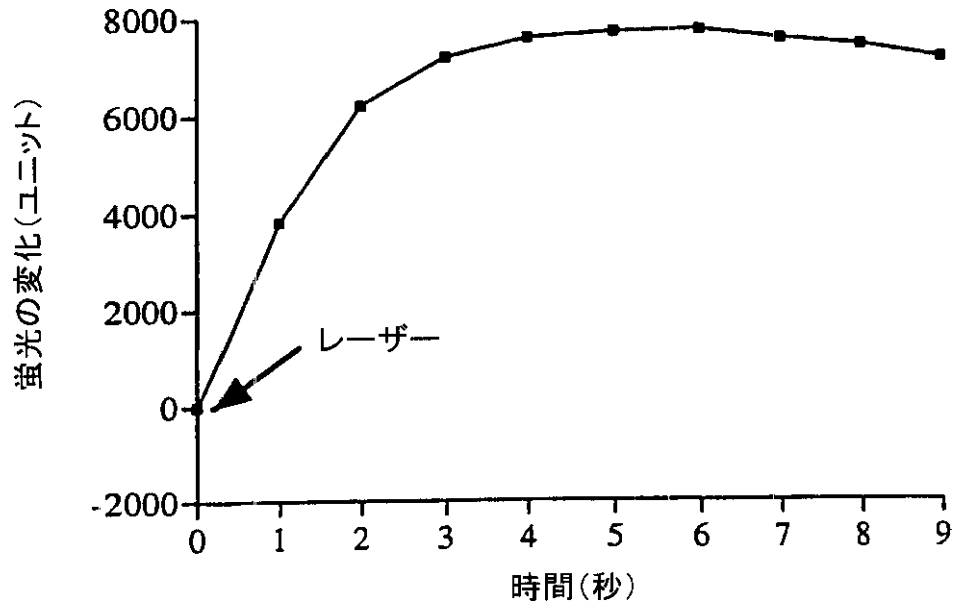
hSNORF36a 351 CCTCATGTCCTTACCCAGGCCCTGTCTTCTTACCAGTAGCCCTCTATA 400
 || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || |||||

rSNORF36 351 CCTTAIGTCGTTCACTCAGGCCCGGCTTCTTTGCCAGCAGCCCTCTACA 400
 || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || ||||| || |||||

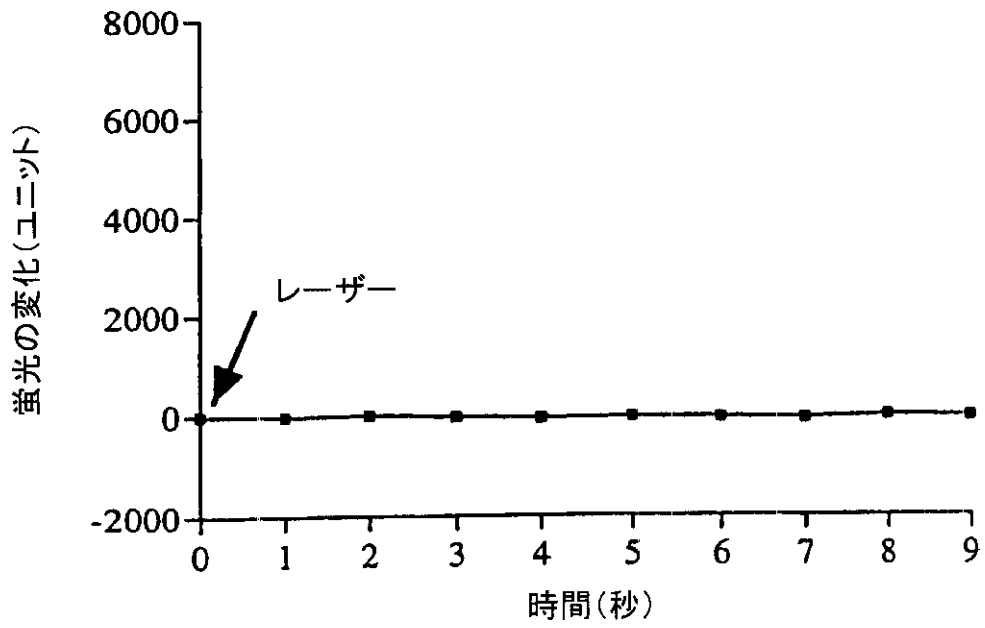
hSNORF36a 1201 AGCTGGATCTCCATACGGAGCGCCAGGAGTCCCTGGGCTCGGAGAGTGA 1250
 |||||
 rSNORF36 1192 AGCTGGATCTCTGGGCAGAAGCGCCAAAGAGTCCCCTGGGTTCTGAGAGTGA 1241
 |||||
 hSNORF36a 1251 GGTGGGCTGGACACACATGGAGGCAGCAGCTGTGTGGGGAGCTGCCCCAGC 1300
 |||||
 rSNORF36 1242 AGTGGGCTGGACAGACACAGAAACAACAGCTGCGTGGGGAGCTGCCCCAGC 1291
 |||||
 hSNORF36a 1301 AAGCAAAATGGGCGGTCCCTCTACGGTCAAGGCTCGGAGGACTTGGAAAGCC 1350
 |||||
 rSNORF36 1292 AAGCAAGTGGACAATCCTTCTGCAGTCATGACCTGGAAGATGGAGAAGTC 1341
 |||||
 hSNORF36a 1351 AAGCACCCCCCAGACCCAGGGACACGAAGCAGAGACTCCAGGGAAGAC 1400
 |||||
 rSNORF36 1342 AAGGCTCCTCCAGCCCCCAGGAACAGAAATCCAAGACTCC...CAAGAC 1388
 |||||
 hSNORF36a 1401 CAAGGGGCTGATCCCCCAGCCAGGACCCAGGATGTAG 1437
 |||||
 rSNORF36 1389 CAAGAGACACCTCCCCCAGTCTGGACCCGAAGGATGTAG 1425
 |||||

hSNORF36a	397	TSNLSWISIRRRQESLGSESEVGVWTHMEAAAVWGAAQQANGRSLYQGGL	446
		. .	
rSNORF36	394	SSDLSWISGQKRQESLGSESEVGVWTDTTAANGAAQQASGQSFCSHDLE	443
hSNORF36a	447	DLEAKAPPRPQGHEAETPGKTKGLIPSDPRM	478
		. .	
rSNORF36	444	DGEVKAPSSPQEQKSKTP.KTKRHLPSLDRRM	474

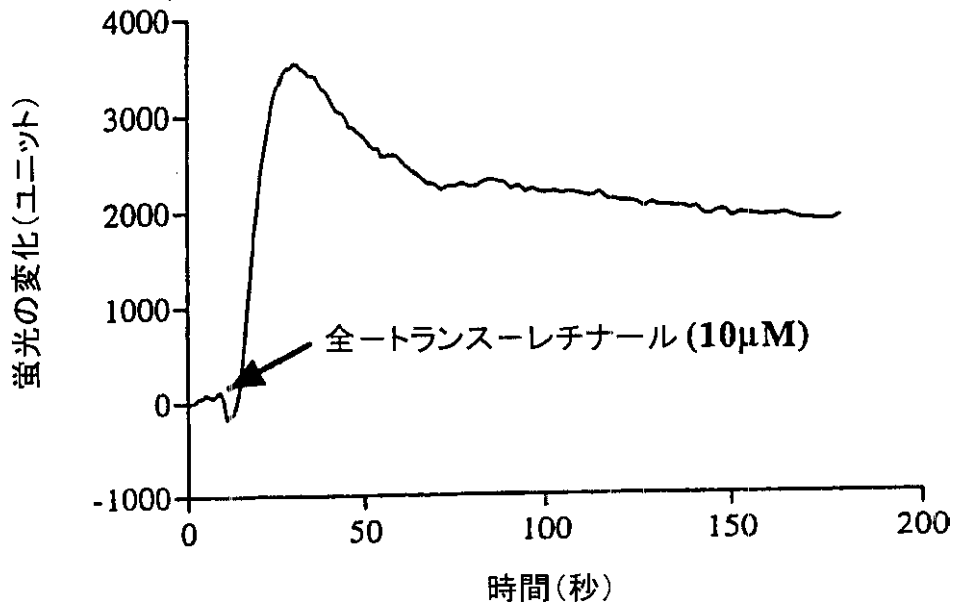
【図13A】



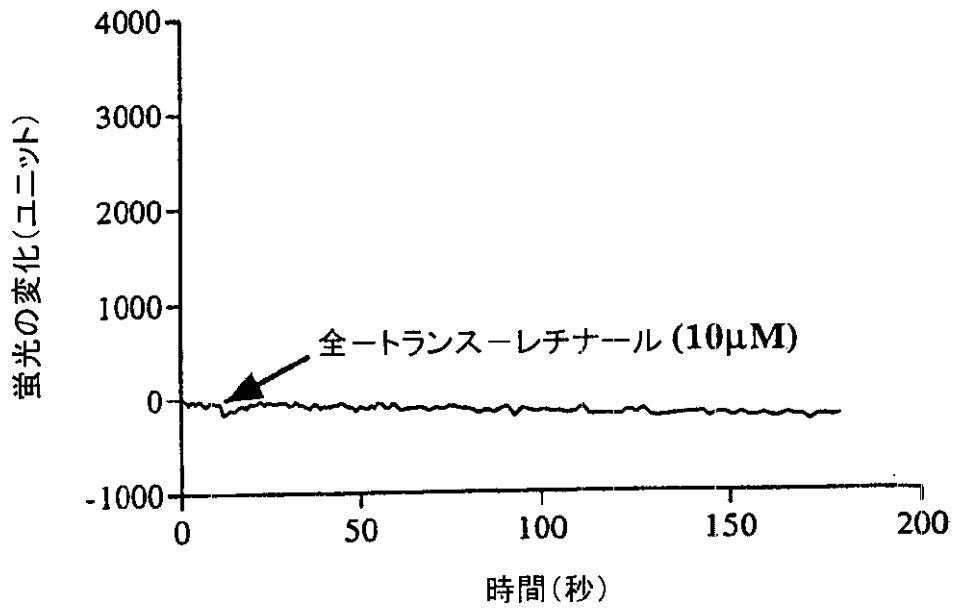
【図13B】



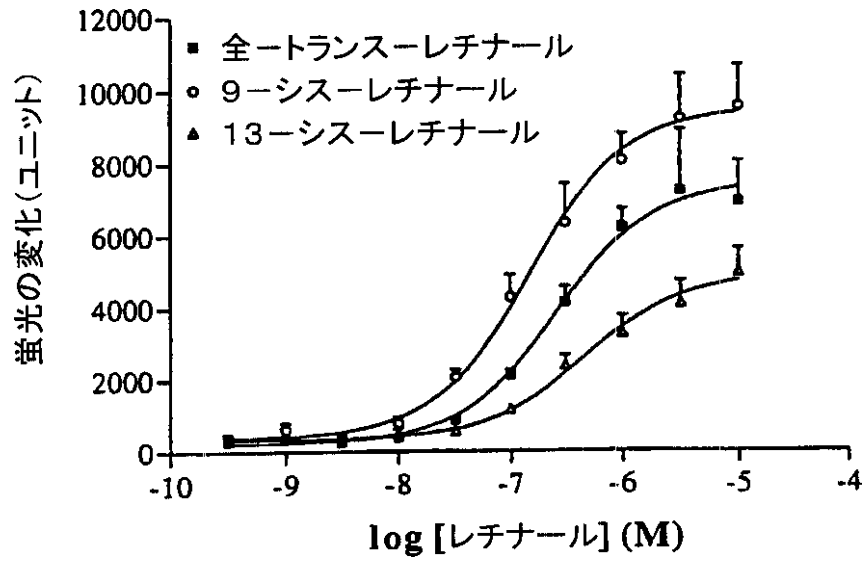
【図14A】



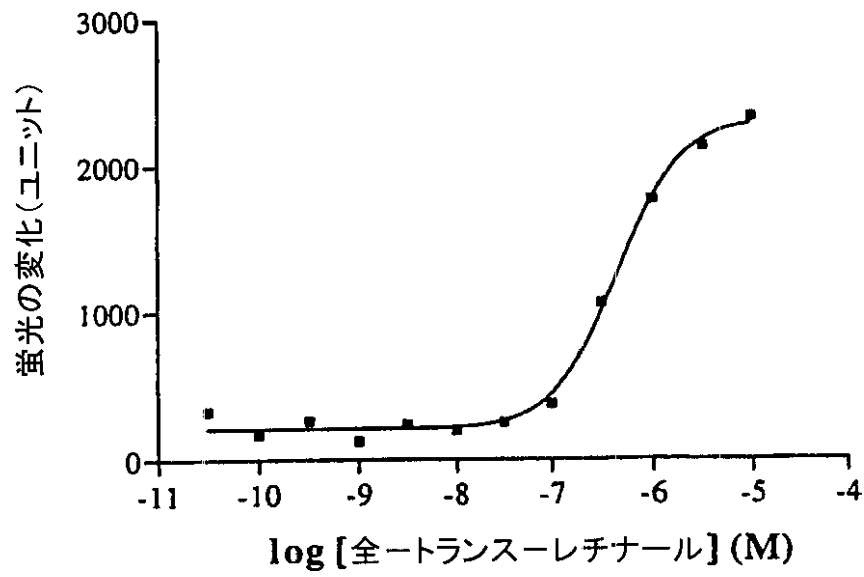
【図14B】



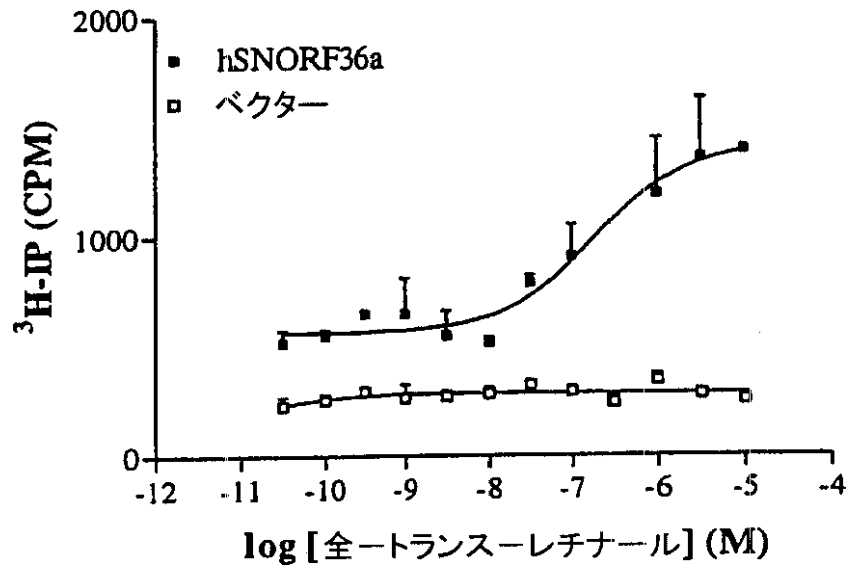
【図15A】



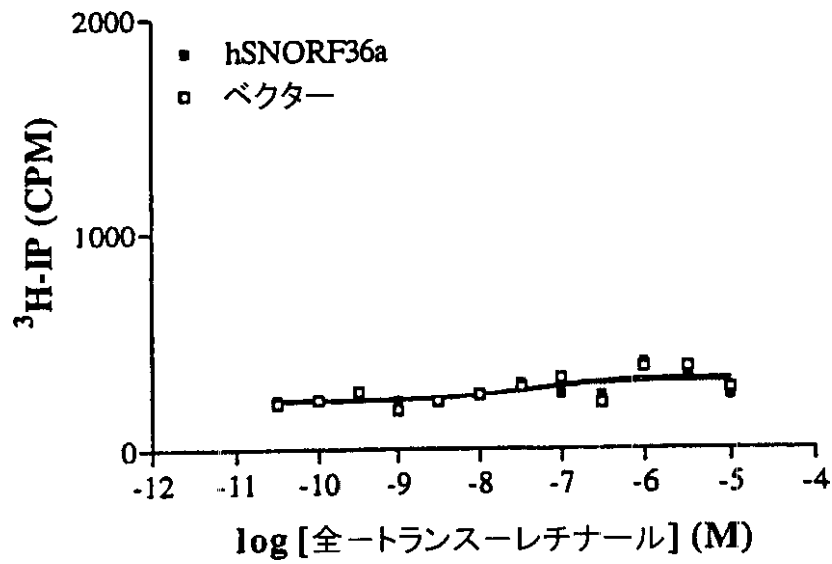
【図15B】



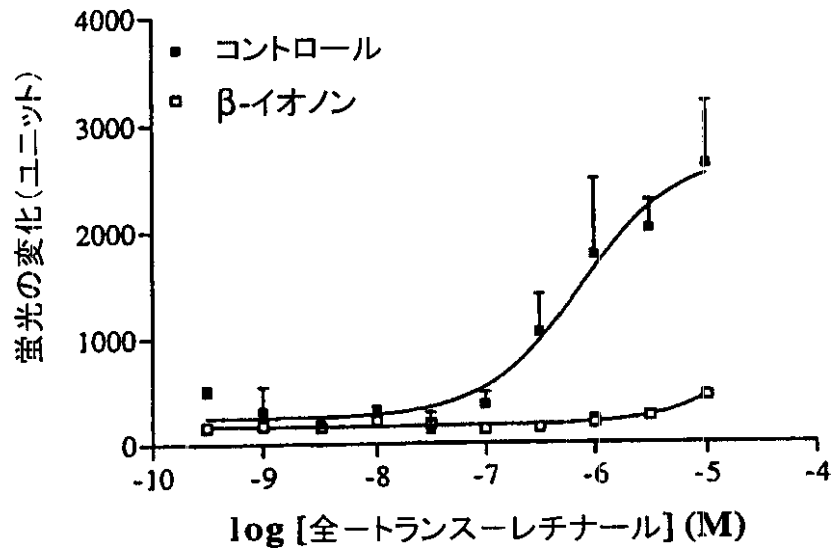
【図16A】



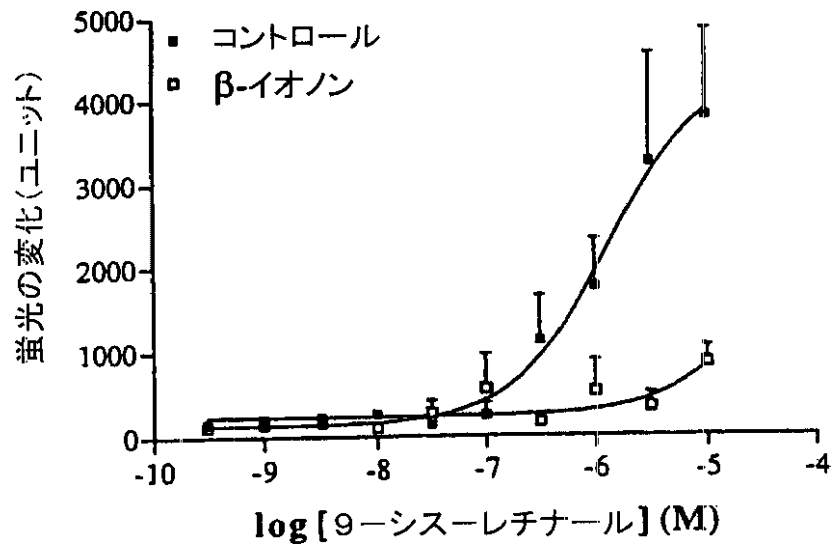
【図16B】



【図17A】



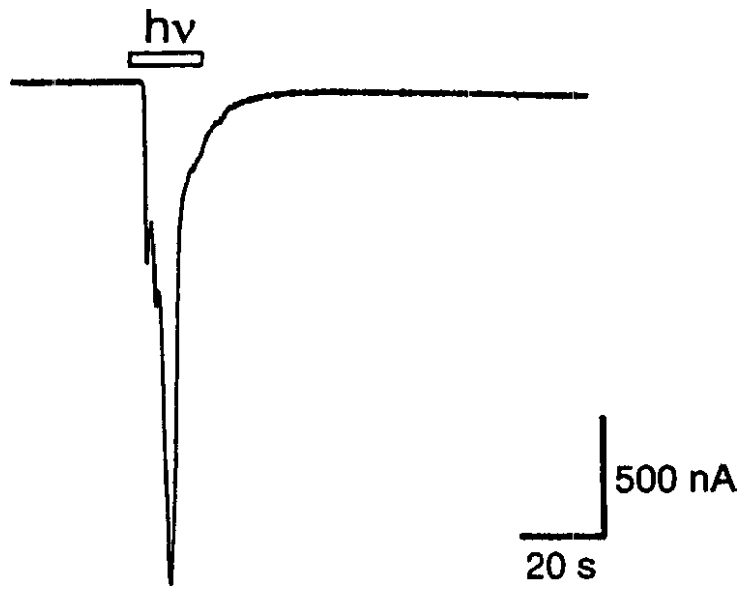
【図17B】



【図18A】



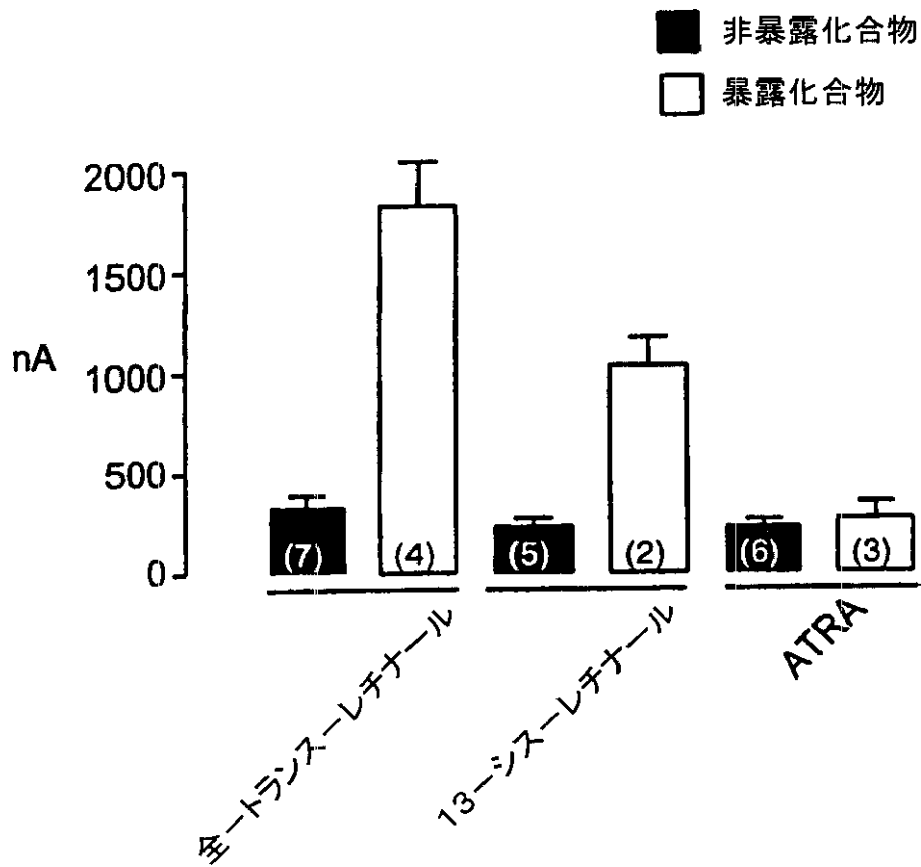
【図18B】



【図18C】



【図19】



【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/12065

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07K 14/705; C07H 21/04; C12N 15/63, 1/21; C12P 21/02; G01N 33/53 US CL : 530/350; 536/23.5; 436/7.1, 69.1, 252.3, 254.2, 320.1, 361 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 530/350; 536/23.5; 436/7.1, 69.1, 252.3, 254.2, 320.1, 361 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Commercial Sequence Databases: GenEmbl, N_Geneseq_36, Issued_Patents_NA, EST, A_Geneseq_36, Issued Patents_AA, PIR_64, SwissProt_38, STREMBL_12		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PROVENCIO, I. et al. Melanopsin: An opsin in Melanophores, Brain and Eye. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. January 1998. Vol. 95, pages 340-345, see entire article, especially Fig. 3.	12-14
A,P	US 6,008,338 A (Fong) 28 December 1999, see entire article.	1-43, 63-74, 76-80, 82-90, 92-98, 100, 115-119, 124-137, 143-149
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:	*T*	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*X*	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
E earlier document published on or after the international filing date	*Y*	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*g*	document member of the same patent family
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 17 AUGUST 2000	Date of mailing of the international search report 07 SEP 2000	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer EILEEN B. O'HARA Telephone No. (703) 308-0196	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/12065

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Please See Extra Sheet.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-43, 63-74, 76-80, 82-90, 92-98, 100, 115-119, 124-137 and 143-149

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US00/12065

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING

This ISA found multiple inventions as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I, claim(s) 1-43, 63-74, 76-80, 82-90, 92-98, 100, 115-119, 124-137 and 143-149, drawn to nucleic acids of SNORF36 receptor, vectors, host cells, SNORF36 protein, and method of making protein recombinantly and a process to screen for compounds that bind to or are antagonists or agonists of SNORF36 receptor and a method for detecting SNORF36 protein with antibody.

Group II, claim(s) 44-46 and 51-55, drawn to antisense oligonucleotides.

Group III, claim(s) 47, 48, 50 and 56, drawn to antibodies.

Group IV, claims 57, 60, 61 and 62, drawn to a transgenic mammal expressing DNA encoding SNORF35 receptor.

Group V, claim(s) 58, 60, 61 and 62, drawn to a transgenic mammal comprising a homologous recombination knockout of SNORF36 receptor.

Group VI, claim(s) 59 and 62, drawn to a transgenic mammal expressing antisense DNA complementary to the DNA encoding a mammalian SNORF36 receptor.

Group VII, claim(s) 49, 75, 81, 91, 105, 106, 122, 123, 141, 142 and 151, drawn to a compound that binds to SNORF36 receptor which could be an antagonist.

Group VIII, claim(s) 49, 110, 111, 120, 121, 138-140 and 150, drawn to a compound that binds to SNORF36 receptor which could be an agonist.

Group IX, claim(s) 99, 113 and 114, drawn to a method of detecting SNORF36 mRNA or DNA or a method of diagnosing a predisposition to a disorder, by nucleic acid hybridization.

Group X, claim(s) 101 and 102, drawn to a method of determining the physiological effects of varying levels of mammalian SNORF36 using a transgenic mammal.

Group XI, claim(s) 103, 104, 108 and 109, drawn to a method for identifying agonists or antagonists of SNORF36 using transgenic mammals.

Group XII, claims 107 and 153, drawn to a method of treating a subject by administering a SNORF36 antagonist.

Group XIII, claims 112 and 152, drawn to a method of treating a subject by administering a SNORF36 agonist.

Group XIV, claims 154-165, drawn to a process of making a composition of matter which binds to a SNORF36 receptor.

The inventions listed as Groups do not relate to a single inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: Pursuant to 37 C.F.R. § 1.475(d), the ISA/US considers that where multiple products and processes are claimed, the main invention shall consist of the first invention of the category first mentioned in the claims and the first recited invention of each of the other categories related thereto. Accordingly, the main invention (Group I) comprises the first recited product, polynucleotides encoding SNORF36 receptor proteins, vectors, host cells, SNORF36 polypeptides, a method of screening for compounds that bind to SNORF36 receptor, a method of detecting SNORF36 polypeptides and a method of recombinantly producing SNORF36. Further pursuant to 37 C.F.R. § 1.475(d), the ISA/US considers that any feature which the subsequently recited products and methods share with the main invention does not constitute a special technical feature within the meaning of PCT Rule 13.2 and that each of such products and methods accordingly defines a separate invention.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 P		A 6 1 P	
1/08		3/00	4 C 0 8 4
3/00		3/04	4 C 0 8 6
3/04		3/10	4 H 0 4 5
3/10		3/12	
3/12		5/00	
5/00		5/38	
5/38		7/02	
7/02		7/04	
7/04		9/00	
9/00		9/02	
9/02		9/04	
9/04		9/10	
9/10		9/12	
9/12		11/00	
11/00		11/06	
11/06		13/02	
13/02		13/08	
13/08		13/12	
13/12		15/08	
15/08		15/10	
15/10		17/00	
17/00		19/02	
19/02		19/08	
19/08		19/10	
19/10		25/00	
25/00		25/02	1 0 1
25/02	1 0 1		1 0 3
	1 0 3	25/04	
25/04		25/06	
25/06		25/14	
25/14		25/16	
25/16		25/18	
25/18		25/20	
25/20		25/22	
25/22		25/24	
25/24		25/28	
25/28		25/30	
25/30		27/16	
27/16		29/00	
29/00		29/02	
29/02		31/04	
31/04		31/10	
31/10		31/12	
31/12		31/18	
31/18		33/02	
33/02		35/00	

35/00			37/02	
37/02			37/04	
37/04			37/08	
37/08			43/00	1 1 1
43/00	1 1 1		C 0 7 K 14/705	
C 0 7 K 14/705			16/28	
16/28			C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 N 5/10			C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 P 21/02			1/68	A
C 1 2 Q 1/02			G 0 1 N 33/15	Z
1/68			33/50	Z
G 0 1 N 33/15			33/53	M
33/50			33/566	
33/53			C 1 2 P 21/08	
33/566			C 1 2 N 15/00	Z N A A
// C 1 2 P 21/08			5/00	B

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 ラクーラニ、パルルール・ピー
 アメリカ合衆国、ニュージャージー州
 07652 パラムス、スプリング・パレー・
 ロード 304

(72)発明者 アダーム、ニカ
 アメリカ合衆国、ニュージャージー州
 07450 リッジウッド、マスティン・プレ
 イス 301

F ターム(参考) 2G045 AA29 AA40 BB20 CB01 CB21
DA12 DA13 DA14 DA36 DA77
FB02 FB03 FB04 FB05 FB07
4B024 AA01 AA11 BA63 CA04 CA09
CA11 CA20 DA02 EA02 EA04
GA11 HA12 HA17
4B063 QA01 QA05 QA18 QQ08 QQ13
QQ20 QQ53 QQ68 QQ79 QR32
QR35 QR55 QR77 QR80 QS03
QS11 QS34 QS38 QX04
4B064 AG20 AG27 CA10 CA19 CC24
DA01 DA13
4B065 AA90X AA91X AA91Y AA93X
AA93Y AB01 AC14 BA02
CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA44
CA53 NA14 ZA022 ZA052
ZA062 ZA082 ZA122 ZA152
ZA162 ZA182 ZA212 ZA222
ZA242 ZA332 ZA342 ZA362
ZA422 ZA432 ZA512 ZA532
ZA542 ZA592 ZA602 ZA662
ZA702 ZA712 ZA812 ZA832
ZA892 ZA962 ZA972 ZB072
ZB082 ZB112 ZB132 ZB262
ZB322 ZB332 ZB352 ZB382
ZC082 ZC212 ZC332 ZC352
ZC412 ZC422 ZC552
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01
MA04 NA14 ZA02 ZA05 ZA06
ZA08 ZA12 ZA15 ZA16 ZA18
ZA21 ZA22 ZA24 ZA33 ZA34
ZA36 ZA42 ZA43 ZA51 ZA53
ZA54 ZA59 ZA66 ZA70 ZA71
ZA81 ZA83 ZA89 ZA96 ZA97
ZB07 ZB08 ZB11 ZB13 ZB26
ZB32 ZB33 ZB35 ZB38 ZC33
ZC35 ZC39 ZC41 ZC42
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA45 DA50 DA75 EA20 EA21
FA72 FA74

专利名称(译)	编码SNORF36a和SNORF36b受体的DNA		
公开(公告)号	JP2003510013A	公开(公告)日	2003-03-18
申请号	JP2000615658	申请日	2000-05-03
申请(专利权)人(译)	突触制药公司		
[标]发明人	ボロースキーベスイー オゴザレククリスティーヌエル ラクーラニパルールピー アダームニカ		
发明人	ボロースキー、ベスイー オゴザレク、クリスティーヌ・エル ラクーラニ、パルール・ピー アダーム、ニカ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K38/00 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/08 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/38 A61P7/02 A61P7/04 A61P9/00 A61P9/02 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/02 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/08 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/16 A61P29/00 A61P29/02 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/567		
CPC分类号	A01K2217/05 A01K2217/075 A61K38/00 A61P1/00 A61P1/08 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/38 A61P7/02 A61P7/04 A61P9/00 A61P9/02 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/02 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/08 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/16 A61P29/00 A61P29/02 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/705 G01N33/567 G01N2333/726		
FI分类号	A61K31/7088 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/08 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/38 A61P7/02 A61P7/04 A61P9/00 A61P9/02 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/02 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/08 A61P15/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/08 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02.101 A61P25/02.103 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/24 A61P25/28 A61P25/30 A61P27/16 A61P29/00 A61P29/02 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P33/02 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/08 A61P43/00.111 C07K14/705 C07K16/28 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/566 C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.B		
F-TERM分类号	2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB05 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ20 4B063/QQ53 4B063/QQ68 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS03 4B063/QS11 4B063/QS34 4B063/QS38 4B063/QX04 4B064/AG20 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA052 4C084/ZA062 4C084/ZA082 4C084/ZA122 4C084/ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA182 4C084/ZA212 4C084/ZA222 4C084/ZA242 4C084/ZA332 4C084/ZA342 4C084/ZA362 4C084/ZA422 4C084		

/ZA432 4C084/ZA512 4C084/ZA532 4C084/ZA542 4C084/ZA592 4C084/ZA602 4C084/ZA662 4C084/ZA702 4C084/ZA712 4C084/ZA812 4C084/ZA832 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZA972 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB112 4C084/ZB132 4C084/ZB262 4C084/ZB322 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZB382 4C084/ZC082 4C084/ZC212 4C084/ZC332 4C084/ZC352 4C084/ZC412 4C084/ZC422 4C084/ZC552 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA05 4C086/ZA06 4C086/ZA08 4C086/ZA12 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA18 4C086/ZA21 4C086/ZA22 4C086/ZA24 4C086/ZA33 4C086/ZA34 4C086/ZA36 4C086/ZA42 4C086/ZA43 4C086/ZA51 4C086/ZA53 4C086/ZA54 4C086/ZA59 4C086/ZA66 4C086/ZA70 4C086/ZA71 4C086/ZA81 4C086/ZA83 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZA97 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB11 4C086/ZB13 4C086/ZB26 4C086/ZB32 4C086/ZB33 4C086/ZB35 4C086/ZB38 4C086/ZC33 4C086/ZC35 4C086/ZC39 4C086/ZC41 4C086/ZC42 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA21 4H045/FA72 4H045/FA74

優先権 09/303593 1999-05-03 US
09/518914 2000-03-03 US

外部链接 Espacenet

摘要(译)

本发明涉及编码哺乳动物SNORF36受体的分离的核酸，纯化的哺乳动物SNORF36受体，包含编码哺乳动物SNORF36的核酸的载体，包含这种载体的细胞，哺乳动物。SNORF36受体的抗体，用于检测编码哺乳动物SNORF36受体的核酸的核酸探针，与编码哺乳动物SNORF36受体的核酸独特的序列互补的反义寡核苷酸，正常备选地，表达编码突变体SNORF36受体的DNA的转基因，非人类动物，分离哺乳动物SNORF36受体的方法，用于治疗与哺乳动物SNORF36受体的活性相关的异常的方法以及哺乳动物。检测化合物与SNORF36受体结合的方法，鉴定snorf36受体激动剂和拮抗剂的方法 并提供如此鉴定的激动剂和拮抗剂。

領域	最大のSNORF36 %	最大のSNORF36b %	最大のSNORF36a %	SNORF36のSNORF36a %	有効な使用
扁桃	50.10 ±5.73	14.64	35.47	70.78	抑うつ恐怖症、不安、気分障害
尾状核殻	100.00 ±7.89	69.18	30.82	30.82	ドーパミン作動性機能の調節、錐体外路運動系の調節
小脳	0.31 ±0.07	検出されず	0.31	100	運動調節
胎児脳	0.22 ±0.05	0.01	0.22	97.28	発達障害
胎児の腎臓	0.61 ±0.10	検出されず	0.61	100	発達障害
胎児の肝臓	0.04 ±0.01	0.01	0.03	63.08	発達障害
胎児の肺	0.42 ±0.11	0.24	0.18	42.79	発達障害
心臓	7.44 ±2.46	検出されず	7.44	100	心臓血管障害
海馬	26.28 ±1.76	10.52	15.76	59.96	認識/記憶
視床下部	0.77 ±0.07	0.04	0.72	94.49	食欲/肥満、電解質平衡
腎臓	0.16 ±0.04	痕跡	0.16	100	高血圧、電解質平衡
肝臓	痕跡	痕跡	0.02	NA	糖尿病
肺	痕跡	痕跡	0.03	NA	呼吸障害、喘息
脾臓	0.07 ±0.01	検出されず	0.07	100	糖尿病、内分泌障害
下垂体	4.38 ±0.76	0.17	4.21	96.20	内分泌/神経内分泌調節
胎盤	0.03 ±0.01	0.05 ±0.02	0.03	100	妊娠の異常
小腸	6.24 ±1.51	0.34	5.90	94.51	胃腸障害